

УДК 544.6:533.379 + 546.21

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО РАСТВОРА ПРИ ДЕЙСТВИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И АЗОТА

¹Мартусевич А.К., ¹Перетягин С.П., ²Иванникова Е.В.

¹ФГБУ «Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии»

Минздравсоцразвития России, Нижний Новгород;

²ГБУЗ НО «Нижегородская областная клиническая больница»,

Нижний Новгород, e-mail: cryst-mart@yandex.ru

Оценена динамика физико-химических параметров (рН, окислительно-восстановительного потенциала, содержания растворенного кислорода) 0,9% раствора хлорида натрия при его барботировании источниками активных форм кислорода и азота (кислородом; озono-кислородной смесью; кислородом, обработанным электромагнитным полем (дарсонвализация); холодной плазмой, насыщенной оксидом азота). Продолжительность барботирования для модифицированного дарсонвализацией кислорода составляла 1, 3 и 10 минут, для нитроксилирования раствора – 1, 3 и 5 минут. Используемые концентрации озона – 1000, 5000 и 10000 мкг/л. Уровень рН и окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) растворов определяли с помощью портативного рН-метра «HI-8314» (Румыния). Температурный градиент и содержание растворенного кислорода оценивали с применением оксигнометра «Oxygenmeter АТТ-3010» (Тайвань). Установлено, что оксигенация способствует снижению окислительно-восстановительного потенциала раствора, увеличивая содержание растворенного кислорода при сохранении исходного рН. Обработка физиологического раствора кислородом, модифицированным при помощи дарсонвализации, приводит к повышению ОВП раствора. Озонирование, также не изменяя рН жидкой системы, дозозависимо стимулирует ее окислительный потенциал. Непродолжительное нитроксилирование раствора (не более 3 минут) демонстрирует эффекты, аналогичные низким концентрациям озона (1000 мкг/л) и кратковременному (1 минута) воздействию активированного полем Д'Арсонваля кислорода. Продолжительная (5 минут) обработка раствора оксидом азота, приводящая к накоплению нитрит- и нитрат-ионов, способствует сильному закислению раствора, сопровождающемуся выраженным ростом его ОВП и снижением количества растворенного кислорода.

Ключевые слова: оксид азота, синглетный кислород, токи Д'Арсонваля, рН, окислительно-восстановительный потенциал растворов

PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF SODIUM CHLORIDE SOLUTION AT ACTIVE OXYGEN AND NITROGEN EFFECT

¹Martusevich A.K., ¹Peretyagin S.P., ²Ivannikova E.V.

¹Nizhny Novgorod Research Institute of Traumatology and Orthopaedy, Nizhny Novgorod;

²Nizhny Novgorod Regional Clinical Hospital, Nizhny Novgorod, e-mail: cryst-mart@yandex.ru

We tested dynamics of some physical and chemical parameters (pH, oxidative and reductive potential, soluted oxygen level) of 0.9% sodium chloride solution at its barbotage by sources of reactive oxygen and nitrogen species (oxygen; ozone and oxygen mixture; oxygen, modified by d'arsonvalization; cold plasma, saturated by nitrogen oxide). Barbotage period for oxygen, modified by d'arsonvalization, was 1, 3 and 10 min, for nitroxilation – 1, 3 and 5 min. We used different ozone concentrations (1000, 5000 and 10000 mcg/l). Solution pH level and its oxidative and reductive potential were estimated by pH-meter «HI-8314». Temperature gradient and soluted oxygen level were tested on «Oxygenmeter АТТ-3010» apparatus. It was stated, that solution oxygenation leads to reduce of oxidative and reductive potential with elevation of soluted oxygen level. Prevent oxygen processing by d'arsonvalization causes the increasing of solution oxidative and reductive potential. Ozonation induced dose-dependent stimulation of solution oxidative possibilities. Short (1-3 min) nitroxilation of sodium chloride solution leads to analogical (with ozonation and modified oxygenation) changes. Long (5 min) nitroxilation causes solution strong acidification with high growth of oxidative and reductive potential and soluted oxygen consumption.

Keywords: nitrogen oxide, singlet oxygen, d'arsonvalization, pH, oxidative and reductive potential, solutions

В настоящее время наблюдается неуклонный рост исследований, посвященных изучению эффекта действия регуляторов радикальных процессов на биологические системы различного уровня организации [1, 3–6, 8, 10, 12, 13]. Следует отметить, что акцент этих изысканий отчетливо смещен в сторону оценки организменного эффекта данных лечебных физико-химических факторов [1, 5, 6, 8–10]. Так, большинство работ в этой области посвящены рассмотрению эффективности озона [1, 6, 8], синглетного кислорода [3, 10, 11] и оксида азота [5, 7, 12–15] при экспериментальной

патологии и в условиях клинической апробации.

Отдельным направлением использования источников активных форм кислорода (АФК) и азота способно выступать системное применение физиологического раствора, модифицированного путем барботирования последнего потоком воздуха, содержащего АФК [1, 5, 8]. В связи с этим принципиальную значимость имеет исследование характера сдвигов физико-химических параметров указанной инфузионной среды при ее обработке источниками АФК. На основании этих сведений можно предпо-

лагать направленность физико-химических перестроек, которые будут происходить при действии модифицированного физиологического раствора на биологические жидкости (прежде всего, на кровь и ее компоненты) в условиях *in vitro* и *in vivo*. Кроме того, подобный подход позволяет выбрать максимально щадящие режимы воздействия, не смещающие гомеостаз основных параметров биосред.

Цель исследования: оценить особенности действия активных форм кислорода и азота на физико-химические параметры физиологического раствора.

Материалы и методы исследования

Нами проведен комплекс исследований некоторых физико-химических параметров (рН, окислительно-восстановительного потенциала, содержания растворенного кислорода) 0,9% раствора хлорида натрия до и сразу по окончании барботирования различными газообразными источниками активных форм кислорода и азота. В спектр воздействующих факторов были включены: кислород; озono-кислородная смесь; кислород, предварительно обработанный электромагнитным полем (дарсонвализация); холодная плазма, насыщенная оксидом азота.

Скорость барботирования при пропускании через физиологический раствор нативного и модифицированного полем Д'Арсонваля кислорода и озono-кислородной смеси составляла 1 л/мин; при барботировании насыщенной оксидом азота плазмой – 2 л/мин. Генерацию электромагнитного поля осуществляли с помощью аппарата для дарсонвализации «Карат Д-212» (Россия). В качестве варибельного параметра при модификации кислорода электромагнитным полем использовали время воздействия (1, 3 и 10 минут). Для каждого воздействия выполняли 5 повторностей эксперимента.

Для получения холодной плазмы, обогащенной оксидом азота, применяли аппарат «Плазон» (Россия) [5, 13]. В плазме, которой барботировали физиологический раствор, с помощью полимерного переходника создавали действующую концентрацию оксида азота 800 мкг/л (расстояние от сопла аппарата 10 см). Время воздействия составляло 1, 3 и 5 минут. Озono-кислородную смесь получали с использованием озонатора «Медозонс БМ-03» (Россия). На выходе из аппарата создавали концентрацию озона 1000, 5000 и 10000 мкг/л.

Уровень рН и окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) растворов определяли портативным рН-метром «НН-8314» (Румыния). Температурный градиент и содержание растворенного кислорода оценивали с применением оксигенометра «Oxygenmeter АГТ-3010» (Тайвань).

Полученные данные были обработаны в программном пакете Statistica 6.0. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом характера распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли Н-критерий Краскала-Уоллеса.

Результаты исследования и их обсуждение

На основании проведенных экспериментов было установлено, что изучаемые

физико-химические факторы оказывают разнонаправленное действие на физико-химические показатели физиологического раствора. Несмотря на то, что все сопоставляемые воздействия приводят к снижению уровня рН рассматриваемой жидкости, степень выраженности сдвигов существенно варьирует (рис. 1). Так, озонирование физиологического раствора вне зависимости от концентрации данной АФК не способствует смещению кислотности среды. Оксигенирование (при пропускании как нативного, так и модифицированного дарсонвализацией кислорода) раствора хлорида натрия также не приводит к существенному снижению рН, однако предварительная обработка кислорода электромагнитным полем в большей степени способствует закислению системы по сравнению с ее озонированием ($p < 0,05$). Следует отметить, что указанный эффект не носит дозозависимого характера.

Наиболее выраженное смещение рН физиологического раствора выявлено при его обработке плазмой, насыщенной оксидом азота (рис. 1). Так, уже после барботирования раствора хлорида натрия в течение 1 минуты градиент его рН достигает $-0,91 \pm 0,09$, а при увеличении времени экспозиции до 3 и 5 минут прогрессивно нарастает (до $-1,24 \pm 0,06$ и $-3,73 \pm 0,14$ соответственно). Эта динамика свидетельствует о наличии связи между продолжительностью барботирования оксидом азота и выраженностью сдвига рН раствора, что указывает на наличие дозозависимости.

В отношении градиента окислительно-восстановительного потенциала физиологического раствора исследуемые физико-химические факторы демонстрировали более существенные различия (рис. 2). В частности, только оксигенация приводила к снижению уровня данного показателя. Остальные изученные воздействия приводили к нарастанию ОВП раствора, однако не при всех из них регистрировали дозозависимые сдвиги параметра. Так, при применении модифицированного дарсонвализацией кислорода наиболее выраженное смещение показателя было выявлено при трехминутной обработке физиологического раствора, тогда как увеличение продолжительности воздействия до 10 минут, как и уменьшение до 1 минуты, снижало уровень ОВП ($p < 0,05$).

Четкая зависимость от дозы была выявлена при использовании различных насыщающих концентраций озона. Так, при увеличении действующей концентрации озона с 1000 до 5000 мкг/л прирост ОВП нарастает с $61,2 \pm 2,1$ до $139,0 \pm 3,8$ мВ (в 2,3 раза; $p < 0,05$), а при применении concentra-

ции озона 10000 мкг/л – до $340,0 \pm 5,6$ мВ (в 5,56 раза по сравнению с концентрацией 1000 мкг/л, $p < 0,05$; в 2,45 раза – по отношению к концентрации 5000 мкг/л,

$p < 0,05$). На наличие дозозависимости дополнительно указывает положительная корреляция высокой силы между концентрацией озона в потоке и ОВП ($r = + 0,98$).

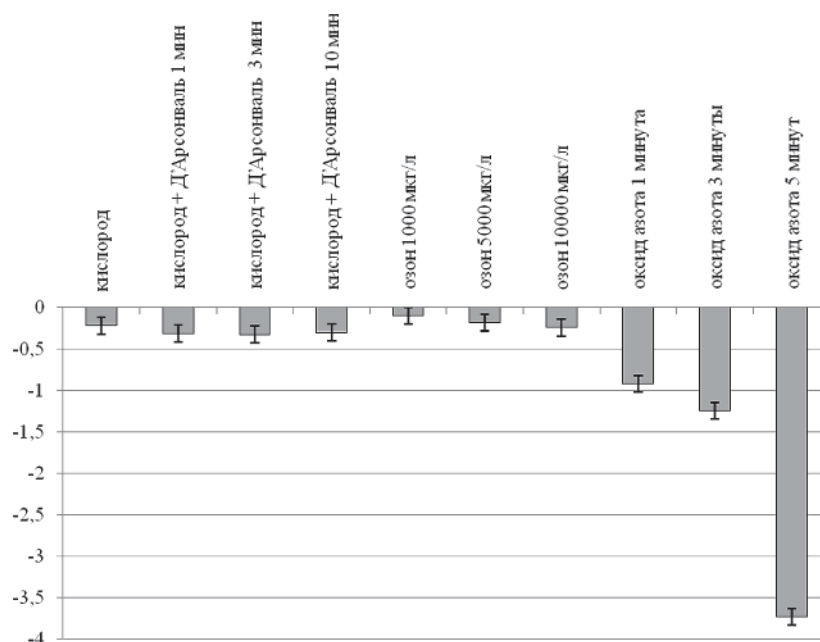


Рис. 1. Градиент рН 0,9% раствора хлорида натрия при его барботировании различными источниками активных форм кислорода и азота в газовой фазе

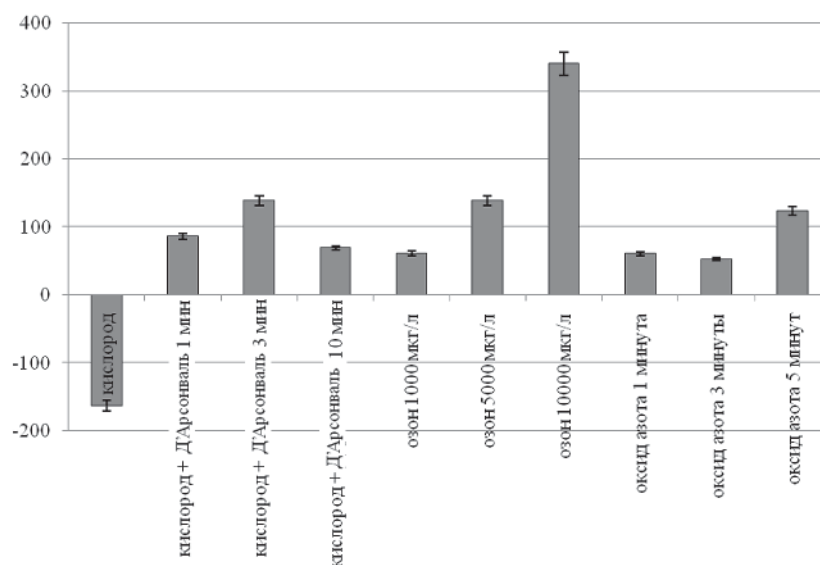


Рис. 2. Градиент окислительно-восстановительного потенциала 0,9% раствора хлорида натрия при его барботировании различными источниками активных форм кислорода и азота в газовой фазе (в мВ)

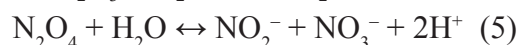
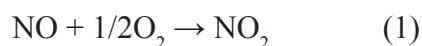
Особый характер зависимости окислительно-восстановительного потенциала был выявлен относительно продолжительности нитроксилирования физиологического раствора (см. рис. 2). Барботирование раствора плазмой, насыщенной оксидом азота, в течение 1 или 3 минут приводит

к значимому повышению ОВП, сопоставимому с эффектом низких концентраций озона (1000 мкг/л) или непродолжительной (1 минута) оксигенации с предварительной обработкой кислородом током Д²Арсонваля (Δ ОВП = $+ 60,5 \pm 3,7$ и $+ 52,5 \pm 4,5$ мВ соответственно). Увеличение продолжитель-

ности воздействия до 5 минут приводит к «парадоксальному» нарастанию значения параметра до $124,0 \pm 5,1$ мВ относительно исходного уровня. Это, по нашему мнению, указывает на изменение характера реакций, происходящих в физиологическом растворе при длительном нитроксилировании. Характер этих процессов раскрывается более полно при анализе динамики содержания кислорода в растворе при рассматриваемых видах воздействий. На основании проведенных исследований установлено, что оксигенация, озонирование и обработка модифицированным дарсовализацией кислородом приводят к нарастанию данного показателя (без четкой дозозависимости), тогда как барботирование холодной плазмой, содержащей 800 мкг/л оксида азота, – к снижению концентрации растворенного кислорода.

Для правильной трактовки этих результатов следует привести некоторые физико-химические характеристики оксида азота, связанные с его растворением. Известно, что оксид азота (II) [NO] – бесцветный газ, умеренно растворимый в воде (1,9 мкМ при 25 °С), в водной среде легко окисляемый кислородом воздуха [2]. В связи с этим сохранность растворов оксида азота некоторые авторы предлагают обеспечивать предварительной аэрацией их ультразвуком с последующим пропусканием через раствор, содержащий пирогаллол.

С учетом дизайна нашего эксперимента (применение водного 0,9% раствора хлорида натрия; его насыщенность атмосферным кислородом и отсутствие препятствий для его дополнительного насыщения в процессе нитрозилирования) в жидкой системе можно предположить протекание следующих реакций, приводящих к практически полному превращению NO в нитрит-анион [2]:



При этом в реальных жидкостях преобладают реакции (3) и (4) в сравнении с реакцией (5); вследствие этого образующаяся концентрация нитрат-иона невелика относительно концентрации нитрит-иона [2]. В связи с вышеперечисленным можно предположить, что в физиологическом растворе при его длительном (5 минут) нитроксилировании в условиях активного расхода растворенного кислорода происходит

накопление значительного количества нитрит- и нитрат-анионов, что приводит к закислению жидкой системы и существенно увеличению ее ОВП.

Заключение

Таким образом, исследованные варианты барботирования физиологического раствора источниками активных форм кислорода и азота приводят к разнонаправленным сдвигам физико-химических параметров. Так, оксигенация способствует снижению окислительно-восстановительного потенциала раствора, увеличивая содержание растворенного кислорода при сохранении исходного рН, т.е. не вызывает химических реакций в растворе. Обработка физиологического раствора кислородом, модифицированным при помощи дарсовализации, по-видимому, обеспечивая систему большим ассортиментом АФК, приводит, кроме увеличения содержания растворенного кислорода, к повышению ОВП раствора. Озонирование, также не изменяя рН жидкой системы, дозозависимо стимулирует ее окислительный потенциал, параллельно являясь источником молекулярного кислорода. Исследование влияния холодной плазмы, насыщенной оксидом азота, позволило установить, что непродолжительное барботирование (не более 3 минут) демонстрирует эффекты, аналогичные низким концентрациям озона (1000 мкг/л) и кратковременному (1 минута) воздействию активированного током Д'Арсонваля кислорода. Продолжительная (5 минут) обработка раствора оксидом азота, приводящая к накоплению нитрит- и нитрат-ионов, способствует сильному закислению раствора, сопровождающемуся выраженным ростом его ОВП и снижением количества растворенного кислорода. В связи с этим мы предполагаем, что продолжительная (5 минут и более) обработка газообразным оксидом азота будет оказывать неблагоприятное действие и на физико-химический гомеостаз жидких биологических систем.

Список литературы

1. Алехина С.П., Щербатюк Т.Г. Озонотерапия. Клинические и экспериментальные аспекты. – Н. Новгород, 2003. – 239 с.
2. Граник В.Г., Григорьев Н.Б. Оксид азота (NO). Новый путь к поиску лекарств. – М.: Вузовская книга, 2004. – 360 с.
3. Заворотная Р.М. Синглетный кислород при лечении ряда патологических процессов: физико-химические аспекты // Украинский ревматологический журнал. – 2002. – № 1. – С. 35–37.
4. Костюк В.А., Потапович А.И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. – Минск: БГУ, 2004. – 174 с.
5. Применение газового потока, содержащего оксид азота (NO-терапия) в комплексном лечении гнойных ран / К.В. Липатов [и др.] // Хирургия. – 2002. – № 2. – С. 41–43.

6. Масленников О.В., Конторщикова К.Н. Озонотерапия: Руководство для врачей. – Н.Новгород, 2008. – 342 с.

7. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 6. – С. 15–18.

8. Применение озона как средства детоксикации в раннем периоде ожоговой болезни / С.П. Перетягин, А.А. Стручков, А.К. Мартусевич, О.В. Костина, А.С. Лузан // Скорая медицинская помощь. – 2011. – Т. 12, № 3. – С. 39–43.

9. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, В.Е. Охотин, Н.С. Косицын. – М.: Наука, 1998.

10. Синглетно-кислородная терапия / под ред. И.З. Самосюк, Л.И. Фисенко. – Киев, 2007. – 228 с.

11. Узденский А.Б. Клеточно-молекулярные механизмы фотодинамической терапии. – М.: Наука, 2010. – 321 с.

12. Remizova M.I. et al. Effect of dinitrozyl iron complexes with glutathione on hemorrhagic shock followed by saline treatment // Eur. J. Pharmacol. – 2011. – Vol. 662. – P. 40–46.

13. Shekhter A.B. et al. Beneficial effect of gaseous nitric oxide on the healing of skin wounds // Nitric oxide. – 2005. – Vol. 12. – P. 210–219.

14. Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiolate ligands: physico-chemistry, biochemistry and physiology // Nitric Oxide. – 2009. – Vol. 21. – P. 1–13.

15. Vanin A.F., Chazov E.I. Prospects of designing medicines with diverse therapeutic activity on the basis of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands // Biophysics. – Vol. 56, № 2. – P. 268–275.

References

1. Alekhina S.P., Scherbatyuk T.G. Ozonoterapija. Klinicheskie i jeksperimental'nye aspekty [Ozone therapy. Clinical and experimental aspects]. Nizhny Novgorod, 2003. 239 p.

2. Granik V.G., Grigorev N.B. Oksid azota (NO). Novyj putk poisku lekarstv [Nitrogen oxide (NO). A new way to medicine search]. Moscow, 2004. 360 p.

3. Zavorotnaya R.M., *Ukrainskij revmatologicheskij zhurnal*, 2002, no. 1, pp. 35–37.

4. Kostyuk V.A., Potapovich A.I. Bioradikaly i bioantioksidanty [Bioradicals and bioantioxidants]. Minsk, 2004. 174 p.

5. Lipatov K.B. et al., *Hirurgija*, 2002, no. 2, pp. 41–43.

6. Maslennikov O.V., Kontorschikova K.N. Ozonoterapija: Rukovodstvo dlja vrachej [Ozone therapy: Guidelines for doctors]. Nizhny Novgorod, 2008. 342 p.

7. Metelskaya V.A., Gumanova N.G., *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika*, 2005, no. 6, pp. 15–18.

8. Peretyagin S.P., Struchkov A.A., Martusevich A.K. et al., *Skoraja medicinskaja pomoshch*, 2011, vol. 12, no. 3, pp. 39–43.

9. Reutov V.P., Sorokina E.G., Ohotin V.E., Kositsin N.S. *Ciklicheskie prevrascheniya oksida azota v organizme mlekopitayuschih* [Cyclic transformations of nitrogen oxide in animals organism]. Moscow, 1998.

10. Samosyuk I.Z., Fisenko L.I. *Singletno-kislородnaya terapiya* [Singlet oxygen therapy]. Kiev, 2007. 228 p.

11. Uzdenkiy A.B. *Kletochno-molekulyarnye mehanizmy fotodinamicheskoy terapii* [Cellular and molecular mechanisms of photodynamic therapy]. Moscow, 2010. 321 p.

12. Remizova M.I. et al. Effect of dinitrozyl iron complexes with glutathione on hemorrhagic shock followed by saline treatment // Eur. J. Pharmacol. 2011. Vol. 662. pp. 40–46.

13. Shekhter A.B. et al. Beneficial effect of gaseous nitric oxide on the healing of skin wounds // Nitric oxide. 2005. Vol. 12. pp. 210–219.

14. Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiolate ligands: physico-chemistry, biochemistry and physiology // Nitric Oxide. 2009. Vol. 21. pp. 1–13.

15. Vanin A.F., Chazov E.I. Prospects of designing medicines with diverse therapeutic activity on the basis of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands // Biophysics. Vol. 56, no. 2. pp. 268–275.

Рецензенты:

Жданова О.Б., д.б.н., доцент, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ГОУ ВПО «Кировская государственная медицинская академия» МЗСР РФ, г. Киров;

Мухина И.В., д.б.н., профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии им. Н.Ю. Беленкова ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» МЗСР РФ, г. Нижний Новгород;

Полещук О.Х., д.х.н., профессор, зав. кафедрой органической химии, Томский государственный педагогический университет Министерства науки и образования, г. Томск.

Работа поступила в редакцию 23.04.2012.