

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА СвёрТЫВАНИЯ КРОВИ В ПРИСУТСТВИИ БОРДИПИРРИНОВЫХ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

Елена Львовна Алексахина¹, Юрий Сергеевич Марфин^{2*}, Дмитрий Александрович Меркушев²,
Ирина Константиновна Томилова¹, Евгений Владимирович Румянцев²

¹Ивановская государственная медицинская академия, г. Иваново, Россия;

²Ивановский государственный химико-технологический университет, г. Иваново, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015792

Цель. Изучение процесса свёртывания крови в присутствии бордипирриновых флюоресцентных красителей.

Методы. С помощью электронной спектроскопии поглощения и флюоресценции исследованы фотофизические свойства ряда бордипирриновых люминофоров в присутствии биологических молекул плазмы крови, а также в модельной системе, содержащей бычий сывороточный альбумин.

Результаты. Взаимодействие исследованных красителей с белковыми компонентами плазмы крови приводит к изменению спектральных характеристик красителей: bathochromному и hypochromному смещению в спектрах поглощения, изменению интенсивности флюоресценции красителей. В рамках теории Штерна-Фольмера установлен механизм изменения флюоресценции соединений, показано, что при концентрациях белков плазмы до 1 г/л преобладает статический фактор за счёт образования молекулярных комплексов красителей и молекул биополимеров, при более высоких концентрациях основной вклад вносят неспецифические взаимодействия с флюорофорами. Показано усиление флюоресцентных характеристик в присутствии белков для бордипирринового комплекса BODIPY, содержащего фенильный заместитель, происходящее за счёт резонансного переноса энергии и изменения физико-химических свойств молекулярного окружения флюорофора.

Вывод. Полученные результаты демонстрируют потенциал использования красителей семейства BODIPY в диагностике процессов свёртывания крови; специфические взаимодействия молекул красителя с формульными единицами изученных биообъектов позволяют провести анализ состава и динамических процессов биообъектов в процессе коагуляции плазмы крови.

Ключевые слова: BODIPY, плазма, свёртывание крови, флюоресцентные характеристики, альбумин, молекулярный сенсор.

STUDYING THE BLOOD CLOTTING INVESTIGATION IN PRESENCE OF BORON-DIPYRRIN FLUORESCENT DYES

E.L. Aleksakhina¹, Yu.S. Marfin², D.A. Merkushev², I.K. Tomilova¹, E.V. Rumyantsev²

¹Ivanovo State Medical Academy, Ivanovo, Russia;

²Ivanovo State University of Chemistry and Technology, Ivanovo, Russia

Aim. To study the blood clotting in presence of boron-dipyrrin fluorescent dyes.

Methods. Photophysical properties of several boron-dipyrrin based fluorescent dyes were examined in presence of blood plasma biomolecules and in model system containing bovine serum albumin using electron absorption spectroscopy and fluorescence spectroscopy.

Results. The interaction between the investigated dyes and protein plasma components changes spectral characteristics of the dyes and leads to bathochromic and hypochromic shifts of absorption spectra accompanied by changing of fluorescence intensity. The mechanism of fluorescence changing was defined within the Stern-Folmer theory. It was shown that the static factor prevails due to dye-biopolymers molecular complex formation at plasma protein concentration up to 1 g/l, while the higher levels are characterized mainly by nonspecific interactions of fluorophores. The increase of fluorescent characteristics of phenyl-substituted BODIPY in the presence of proteins caused by resonance energy transfer and physicochemical features changes of the fluorophore molecular environment was shown.

Conclusion. The gained results demonstrate the possibility of using the BODIPY dye for determination of blood clotting activity. Specific interactions of dye molecules with studied biological objects allows to analyze the contents and dynamic processes in biological objects at blood serum clotting.

Keywords: BODIPY, plasma, blood clotting, fluorescent characteristics, albumin, molecular sensor.

Нарушение механизмов гемостаза — причина многих заболеваний. Для качественной диагностики или мониторинга заболевания необходимо количественно охарактеризовать стадии гемостаза, оценивая активность факторов гемостаза в том их окружении, которое задано сложившейся терапевтической ситуацией.

Традиционно диагностика сводится к определению времени свёртывания различных образцов плазмы крови под действием

добавленных *in vitro* факторов свёртывания (тромбопластина или тромбина). В лучшем случае оценивают циркулирующие в крови компоненты свёртывающей системы и маркёры их активации. К примеру, определяют активированное частичное тромбопластиновое время и протромбиновое время. Существуют и другие подходы к диагностике, например тест пространственного роста сгустка, основанный на принципе видеомикроскопического наблюдения за ростом фибринового сгустка в плазме крови после активации свёртывания иммобилизованным на поверхности

Адрес для переписки: ymarfin@gmail.com

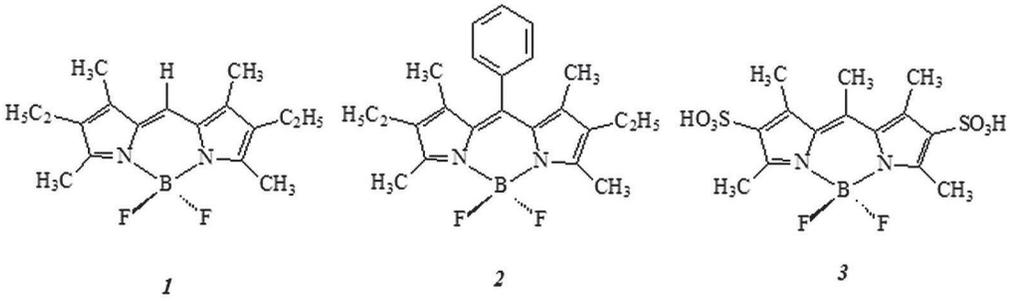


Рис. 1. Структурные формулы исследованных бордипириновых комплексов (BODIPY) флюорофоров

тканевым фактором [1].

Общие тесты определяют время до начала образования сгустка, но не отражают глобальный баланс свёртываемости, а также не дают истинного представления о причинах нарушений. В связи с этим появились новые подходы к диагностике нарушений в системе свёртывания с использованием методов флуоресцентной диагностики, например функциональный метод количественного определения эндогенного тромбинового потенциала [3]. Эндогенный тромбиновый потенциал, как считают авторы, отражает баланс между процессами в плазме, содействующими свёртыванию и противодействующими ему, и может использоваться для выявления как повышенной, так и пониженной свёртываемости крови. Метод представляет собой дальнейшее развитие оригинального метода, предложенного Н.С. Hemker и соавт. [7], и позволяет определять концентрацию и время действия тромбина и количественно оценивать способность к образованию тромбина.

Развитие методов флуоресцентной диагностики биохимических процессов и патологических состояний — актуальная междисциплинарная задача. В этой связи в работе проведено сравнение спектральных характеристик трёх перспективных флюорофоров на основе бордипириновых комплексов (BODIPY) в плазме и сыворотке крови, определены характер и величины изменений спектральных характеристик в процессе коагуляции плазмы крови.

Органические красители 4,4-дифторо-1,3,5,7-тетраметил-2,6-диэтил-4-бор-3а,4а-диаза-индацен (1) и 4,4-дифторо-1,3,5,7-тетраметил-2,6-диэтил-фенил-4-бор-3а,4а-диаза-индацен (2) синтезировали, очищали и идентифицировали в соответствии с методиками, описанными в литературе [8, 9]. Перед проведением экспериментов соединения растирали и измельчали под

вакуумом до постоянной массы. Натриевую соль 4,4-дифторо-1,3,5,7,8-пентаметил-2,6-дисульфо-4-бор-3а,4а-диаза-индацена (3, «Invitrogen», США) применяли без дополнительной очистки (рис. 1).

Для исследования использовали плазму крови без следов гемолиза. Для этого кровь из локтевой вены забирали в пластиковую пробирку, в которой содержался 3,8% раствор натрия цитрата (9:1) для связывания ионов Ca^{2+} , перемешивали и центрифугировали 15 мин при 3000 об./мин. Надосадочную жидкость (плазму) отбирали в другую пластиковую пробирку и использовали для исследования.

Сыворотку крови получали путём её естественного свёртывания: венозную кровь, полученную без антикоагулянтов, помещали в центрифужную пластиковую пробирку, отстаивали в ней при комнатной температуре в течение 30 мин до полного образования сгустка. Затем центрифугировали 15 мин при 3000 об./мин.

Диметилсульфоксид («ХимМед», Россия, чистый для анализа) очищали по стандартным методикам, остаточное содержание воды (<0,02%) определяли по методу Фишера. Кальция хлорид («ХимМед», Россия) перед экспериментом высушивали в вакууме до постоянной массы.

Электронные спектры поглощения регистрировали в диапазоне 350–800 нм на спектрофотометре СФ-104 («Аквилон», Россия), управляемом с персонального компьютера при помощи программного комплекса «UVWin 5.1». Спектры флуоресценции регистрировали в диапазоне 500–900 нм на спектрофлуориметре « Cary Eclipse» («Varian-Agilent», США–Австралия), управляемом с персонального компьютера при помощи программного комплекса «Cary Eclipse Scan Application 1.1». Для определения характеристик флуоресценции использовали свет с длиной волны 480 нм. Ширина щелей возбуждения и

Значения фотофизических параметров исследуемых красителей

Вплазмы, мкл	0	2,5	5	7,5	10	12,5
1						
ϕ	0,723	0,641	0,584	0,572	0,572	0,51
τ , нс	6,77	6,04	5,5	5,27	5,27	4,59
$k_{fl} \times 10^8$, с ⁻¹	1,07	1,06	1,06	1,09	1,09	1,11
$k_{nr} \times 10^8$, с ⁻¹	0,41	0,59	0,76	0,81	0,81	1,07
2						
ϕ	0,196	0,308	0,348	0,37	0,358	0,382
τ , нс	2,79	5,17	6,07	6,46	6,49	7,17
$k_{fl} \times 10^8$, с ⁻¹	0,7	0,6	0,57	0,57	0,55	0,53
$k_{nr} \times 10^8$, с ⁻¹	2,88	1,34	1,07	0,98	0,98	0,86
3						
ϕ	0,83	0,645	0,635	0,619	0,584	0,582
τ , нс	6,88	4,01	3,88	3,81	3,6	3,6
$k_{fl} \times 10^8$, с ⁻¹	1,21	1,61	1,64	1,62	1,62	1,67
$k_{nr} \times 10^8$, с ⁻¹	0,25	0,88	0,94	1	1,16	1,16

Примечание: ϕ — квантовый выход флуоресценции; τ — время жизни возбуждённого состояния; k_{fl} — константа скорости излучательной дезактивации; k_{nr} — константа скорости безызлучательной дезактивации, в растворах с различным содержанием плазмы.

эмиссии варьировала в диапазоне 2,5–5 нм. Все эксперименты проводили в термостабируемой ячейке с модулем переноса тепла Пельтье РТС-2 при фиксированных значениях температуры.

Установлено, что белки способны к образованию молекулярных комплексов с флюорофорами. Механизмы комплексообразования различны и зависят от природы заместителей в молекуле флюорофора, а также от физико-химических характеристик его окружения: общего содержания белков в биологическом образце (разбавления плазмы или сыворотки крови) и природы белковой молекулы.

Показано (табл. 1), что для гидрофобных соединений **1** и **2** комплексообразование происходит в гидрофобных карманах белковых глобул, при этом в случае соединения **1** происходит «тушение флуоресценции», в случае соединения **2** — «разгорание флуоресценции» за счёт резонансного переноса энергии. Соединение **3** ввиду своей гидрофильной природы обладает наибольшим сродством к биологическим объектам, что приводит к наибольшим по величине изменениям спектральных и флуоресцентных характеристик, но меньшей селективности по отношению к белкам плазмы

крови. В этой связи наибольший интерес представляет соединение **2**, обладающее достаточной селективностью к действию белков плазмы крови, а также при молекулярном комплексообразовании повышающее свои флуоресцентные свойства.

При титре белков плазмы или сыворотки крови до 2,5 г/л происходит их специфическое взаимодействие с флюорофором **2**, сопровождающееся увеличением относительной интенсивности флуоресценции красителя за счёт взаимодействия фенильного фрагмента красителя с компонентами молекул белков. При более высокой концентрации биообъектов происходит «тушение флуоресценции» красителя по динамическому механизму за счёт случайных столкновений молекул белков с молекулами флюорофора [6]. Это позволяет детально анализировать процессы, происходящие с биологическими образцами, используя их соответствующее разбавление.

С этой точки зрения интересно сравнить флуоресцентные характеристики сыворотки и плазмы крови здоровых доноров и модельной системы на основе бычьего сывороточного альбумина: при титре белка 0,58 г/л для образцов плазмы увеличение флуоресценции составляет порядка 2,2,

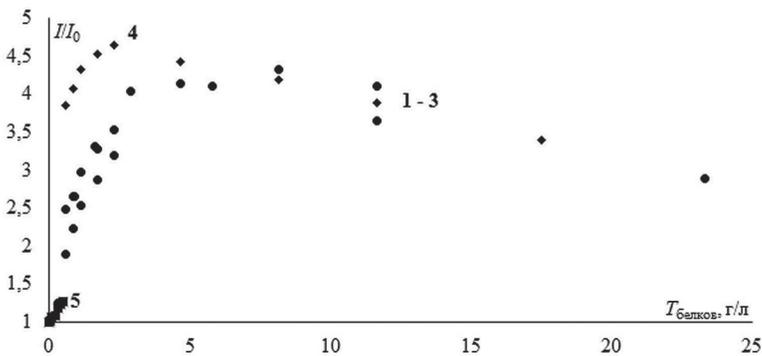


Рис. 2. Зависимость относительной интенсивности флюоресценции (I/I_0) красителя 2 в растворе от концентрации биообъекта (плазмы или сыворотки крови) в исследуемой системе в условиях постоянства общего объема системы: 1-3 – образцы плазмы крови; 4 – образец сывороткой крови; 5 – бычий сывороточный альбумин

для сыворотки крови – 3,85, для раствора бычьего сывороточного альбумина – 1,3, а общий вид зависимостей суммирован на рис. 2.

Известно, что альбумины, содержание которых в плазме составляет до 60% общего количества белка, связывают различные гидрофобные вещества. В модельной системе бычьего сывороточного альбумина эта функция альбумина купирована, поэтому «разгорание флюоресценции» минимальное.

Кроме того, различаются и структуры бычьего и человеческого альбуминов: как аминокислотная последовательность, так и третичная структура. Есть различие в количестве триптофановых остатков: в бычьем альбумине их два – один внутри глобулы, другой на её поверхности; в случае человеческого альбумина – только внутри гидрофобного кармана.

Краситель взаимодействует с белком за счёт π -стэкинг-взаимодействий, в случае бычьего альбумина это будет препятствовать полному переходу его в гидрофобную область и, следовательно, «разгоранию флюоресценции».

Большее разнообразие структурных единиц в случае биообъектов приводит к значительно более ярко выраженному росту флюоресцентных характеристик. Обнаружено, что рост флюоресценции выше в случае образцов сыворотки крови в сравнении с плазмой. Фибриноген относится к белкам, богатым ароматическими аминокислотами, в том числе триптофаном. По всей видимости, часть красителя связывается именно с триптофановыми фрагментами на фибриногене, оставаясь на поверхности белка, не переходя в гидрофобную область. Этим и обусловлен факт меньшей флюо-

ресценции красителя 2 в плазме по сравнению с сывороткой крови. Таким образом, фибриноген, содержащийся в плазме крови, выступает в качестве «тушителя» флюоресценции по отношению к используемому флюорофору. Разницу в спектральных характеристиках образцов сыворотки и плазмы крови пациента можно использовать в качестве экспрессного метода определения содержания фибриногена.

После добавления к раствору плазмы, содержащему флюорофор 2, кальция хлорида в указанной концентрации на всём регистрируемом интервале длин волн наблюдается увеличение поглощения раствора, также происходит уменьшение интенсивности флюоресценции красителя, свидетельствующие о начале процесса образования сгустка, то есть изменения степени коллоидности исследуемой системы (рис. 3).

На основании изменения интенсивности поглощения турбидиметрическим методом были определены оценочные значения размеров образующихся фибриновых сгустков. Независимо от концентрации плазмы в исследуемой системе, радиус частиц изменяется в 1,5–2 раза, что соответствует процессу полимеризации исходного фибриногена в димер [4].

Построенные по этим спектрам кривые показывают изменение значений интенсивности флюоресценции красителя 2 в зависимости от времени (рис. 4) и свидетельствуют о протекании в кювете двух последовательных процессов, характеризующихся разными скоростями (участок *a* и участок *b*). Добавляя в кювету кальция хлорид, мы запускаем процесс полимеризации фибрина (участок *a*). Добавление в кювету гепарина, изменяет картину наблюдаемого процес-

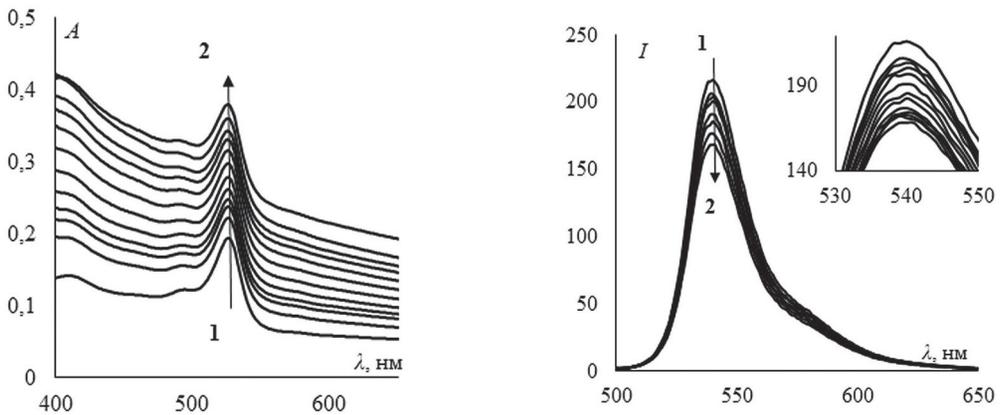


Рис. 3. Изменения в электронных спектрах поглощения и спектрах флюоресценции раствора красителя 2, содержащего плазму крови (0,125 мл плазмы в общем объёме образца 3,5 мл), при добавлении ионов Ca^{2+} : 1 – в отсутствии Ca^{2+} ; 2 – через 60 мин после добавления Ca^{2+} . Стрелками показано направление эволюции спектров. А – оптическая плотность раствора; I – интенсивность флюоресценции

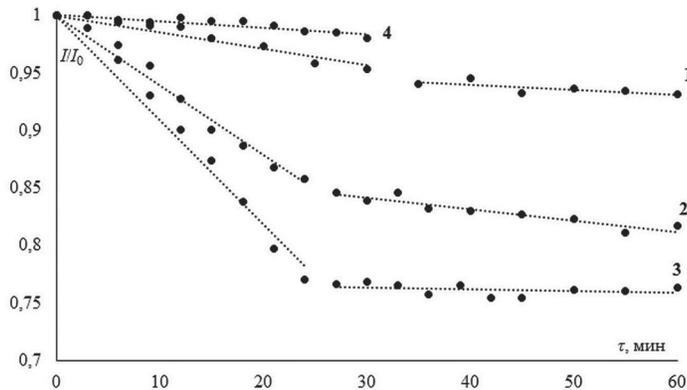


Рис. 4. Изменение значений относительной интенсивности флюоресценции (I/I_0) красителя 2 в зависимости от времени после добавления к раствору ионов Ca^{2+} : 1 – объём плазмы в системе 50 мкл; 2 – объём плазмы в системе 125 мкл; 3 – объём плазмы в системе 250 мкл; 4 – объём плазмы в системе 200 мкл в присутствии гепарина (3 МЕ/л)

са, так как гепарин, являясь ингибитором тромбина, препятствует образованию фибрин-мономеров из фибриногена [2].

Процесс отщепления от фибриногена фибринопептидов А и В от цепей $\text{A}\alpha$ и $\text{B}\beta$ фибриногена под действием тромбина протекает почти мгновенно, и определить скорость этой реакции не представляется возможным. Далее при всех разбавлениях плазмы мы наблюдаем процесс, связанный с изменением в сольватном окружении фибрин-мономеров и с изменением их упаковки. Идёт процесс, называемый в литературе «образованием двухцепочечной протофибриллы», при этом мономерный фибрин образует нити фибрина по механизму поликонденсации, образуя ковалентные связи (участок а). Однако данные исследования позволяют определить активность тромбина в крови на момент её забора из вены.

Показано, что значения наблюдаемых констант скорости процесса нелинейно зависят от объёма добавленной плазмы, то есть от концентрации белковых компонентов плазмы. Это связано со сложным механизмом образования фибринового сгустка в процессе полимеризации.

Известно, что ключевым фактором системы свёртывания крови служит тромбин. Непосредственно под действием тромбина происходит формирование фибрина из фибриногена. Даже небольшого «фонового» уровня содержания в плазме тромбина достаточно для образования фибринового сгустка.

Процесс полимеризации фибрина проходил при комнатной температуре в обычной спектрофотометрической кювете из кварцевого стекла, не снабжённой приспособлением с иммобилизованным тканевым фактором, в свете того, что кровь, взятая из организма,

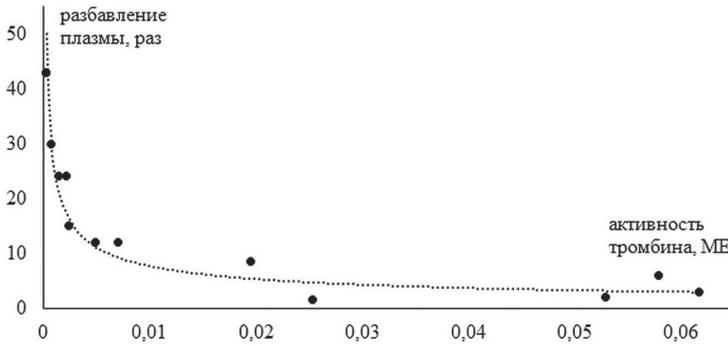


Рис. 5. Зависимость наблюдаемой активности тромбина от степени разбавления плазмы крови

свернётся обязательно при контакте с любым искусственным материалом [5].

Активность тромбина, определяемую только как скорость расходования его субстрата — фибриногена — и превращения его в фибрин, исходя из данных спектрофотометрии, оценить невозможно. Однако действие тромбина направлено на поликонденсацию фибрин-мономеров в фибрин-полимер, поэтому скорость лимитирующей поликонденсации можно интерпретировать как активность тромбина.

Данные рис. 5 показывают, что при разном разбавлении плазмы время протекания стадии поликонденсации изменяется: в более разбавленных растворах плазмы оно выше, а в более вязких растворах (меньшее разбавление плазмы) уменьшается. Повидимому, проявляется специфическая роль взаимного расположения молекул мономеров.

Кроме того, к общим закономерностям процессов поликонденсации относится существенное влияние растворителя на скорость процесса и молекулярную массу получаемого полимера. С понижением концентрации мономера скорость процесса уменьшается и, как правило, снижается молекулярная масса полимера. В связи с этим интерес представляет зависимость скорости образования фибрина-полимера (активности тромбина) от разбавления плазмы по данным для участка *a*.

Скорость процесса определяли по формуле:

$$A = \frac{(I - I_0) \times c_f}{I_0 \times \tau},$$

где *A* — активность тромбина; *I*₀ — интенсивность флюоресценции до добавления в кювету кальция хлорида; *I* — интенсивность флюоресценции после добавления в кювету кальция хлорида; *c_f* — концентрация фибриногена в кювете (нмоль/л); *τ* — время (мин).

При разбавлении плазмы не более чем в 10 раз активность тромбина утрачивает свою параболическую зависимость от разбавления и принимает линейный характер. Экстраполяция зависимости на неразбавленную плазму даёт результат активности тромбина 100 МЕ, что находится в хорошем соответствии с данными TGA-анализа для нормальной плазмы.

ВЫВОДЫ

1. Полученные результаты демонстрируют потенциал использования красителей семейства **ВODIPY** в диагностике процессов свёртывания крови.
2. Специфические взаимодействия молекул красителя с формульными единицами изученных биологических объектов позволяют провести анализ состава и динамических процессов биологических объектов в процессе коагуляции плазмы крови.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов №14-03-31888 и 15-33-20002 мол_а_вед, а также при поддержке стипендии Президента РФ молодым учёным и аспирантам СП-1742.2013.1.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атауллаханов Ф.И., Пантелеев М.А. Свёртывание крови: биохимические основы // Клини. онкогематол. Фунд. иссл. и клин. практик. — 2008. — Т. 1, №1. — С. 50-62. [Pantelev M.A., Ataulakhanov F.I. Blood coagulation: basical biochemistry. *Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika*. 2008; 1 (1): 50-62. (In Russ.)]
2. Бутенас С., Манн К.Г. Свёртывание крови. Обзор // Биохимия. — 2002 — Т. 67, №1. — С. 5-15. [Butenas S., Mann K.G. Blood clotting. *Rewiev. Biokhimiya*. 2002; 67 (1): 5-15. (In Russ.)]
3. Наместников Ю.А. Тест генерации тромбина — интегральный показатель состояния системы свёртывания

крови // Гематол. и трансфузиол. — 2010. — Т. 55, №2. — С. 32–39. [Namestnikov Yu.A. Thrombin generation test as an integral indicator of the blood clotting system status. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2010; 55 (2): 32–39. (In Russ.)]

4. Пантелеев М.А., Атауллаханов Ф.И. Свёртывание крови: методы исследования и механизмы регуляции (часть 2) // Клини. онкогематол. Фунд. иссл. и клин. прак. — 2008. — Т. 1, №2. — С. 174–181. [Pantelev M.A., Ataullakhanov F.I. Blood coagulation: methods of research and mechanisms of regulation. *Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika*. 2008; 1 (2): 174–181. (In Russ.)]

5. Севастьянов В.И. Общие представления о процессах взаимодействия чужеродной поверхности с кровью. В кн.: Биосовместимость / Под ред. В.И. Севастьянова. — М.: ИЦ ВНИИгеосистем, 1999. — С. 199. [Sevast'yanov V.I. General aspects of foreign surface and blood interaction processes, in *Biosovmestimost'*

(Biocompatibility). Ed. by V.I. Sevast'yanov. Moscow: Publishing house of Russian scientific and research institute of geologic, geophysical and geochemical systems. 1999; 199. (In Russ.)]

6. Lakowicz J.R. Principles of fluorescence spectroscopy. 3rd edition. — Springer US, 2006. — 954 p.

7. Hemker H.C., Welder S., Kessels H., Beguin S. Continuous registration of thrombin generation in the determination of the thrombin potential // *Thromb. Haemost.* — 1993. — Vol. 70. — P. 617–624.

8. Rumyantsev E.V., Marfin Yu.S., Antina E.V. Donor-acceptor complexes of dipyrrolylmethenes with boron trifluoride as intermediates in the synthesis of BODIPY // *Rus. Chem. Bulletin*. — 2010. — Vol. 59. — P. 1890–1895.

9. Rumyantsev E.V., Alyoshin S.N., Marfin Yu.S. Kinetic study of BODIPY resistance to acids and alkalis: stability ranges in aqueous and non-aqueous solutions // *Inorg. Chim. Acta*. — Vol. 408. — P. 181–185.

УДК 612.015.11: 612.084: 612.232: 616.36: 616.153.1

DOI: 10.17750/KMJ2015-???

ВЗАИМОЗАВИСИМОСТЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В ПЕЧЕНИ И КРОВИ У КРЫС С РАЗНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЁННОЙ АНОКСИИ

Гульнар Анузовна Байбурина^{1*}, Елена Александровна Нургалева¹,
Сергей Александрович Башкатов², Дарья Захаровна Шибкова³

¹Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия;

²Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия;

³Челябинский государственный педагогический университет, г. Челябинск, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-798

Цель. Изучение взаимозависимости показателей свободнорадикального окисления в печени и крови крыс с различной резистентностью к гипоксии в длительной динамике после ишемического повреждения, вызванного остановкой системного кровообращения.

Методы. Остановку кровообращения длительностью 5 мин моделировали под эфирным наркозом на самцах белых крыс, разделённых после тестирования на три группы по устойчивости к гипоксии. Период наблюдения составлял 35 дней. В гомогенатах тканей печени определяли содержание восстановленного глутатиона, каталазы, продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой; в крови — каталазу эритроцитов, общую антиоксидантную активность, глутатионпероксидазу, глутатионтрансферазу, содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой. Статистическую обработку данных проводили методами параметрической статистики, регрессионного и факторного анализа.

Результаты. Крысы с разной устойчивостью к гипоксии исходно статистически значимо различались по уровню функционирования ряда показателей защитных систем в клетках тканей печени и крови. В результате общего факторного анализа всего массива эмпирических данных выявлено два фактора, условно названных «устойчивость к гипоксии» и «антиоксидантная активность крови». Посуточный анализ показателей, зарегистрированных на 1-е, 3-е, 5-е, 7-е, 14-е, 21-е и 35-е сутки эксперимента, выявил сходство общего и посуточных факторных решений, что свидетельствует об объективности выявленных закономерностей и позволяет подчеркнуть существенную роль в патогенезе аноксических состояний процессов свободнорадикального окисления.

Вывод. Существенной составляющей устойчивости организма к гипоксии, влияющей на выживаемость животных после перенесённой остановки системного кровообращения, является баланс активности про- и антиоксидантных систем в печени и крови, по уровню показателей которых можно прогнозировать устойчивость к гипоксии и течение восстановительного периода.

Ключевые слова: гипоксия, свободнорадикальное окисление, печень, крысы, антиоксидантная активность крови.

ASSOCIATION OF BLOOD AND LIVER FREE RADICAL OXIDATION INDICATORS IN RATS WITH DIFFERENT RESISTANCE TO HYPOXIA AFTER SURVIVED ANOXIA

G.A. Bayburina¹, E.A. Nurgaleeva¹, S.A. Bashkatov², D.Z. Shibkova³

¹Bashkir State Medical University, Ufa, Russia;

²Bashkir State University, Ufa, Russia;

³Chelyabinsk State Educational University, Chelyabinsk, Russia

Aim. To study the association of rat liver and blood free radical oxidation indicators with different resistance to hypoxia on the long run after ischemic damage caused by systemic circulation arrest.

Methods. Circulatory arrest lasting for 5 minutes was modeled at ether anesthesia on male white rats which were