

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-и, 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 аноксического состояния 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

further allocated to 3 groups according to resistance to hypoxia. The observation period was 35 days. The levels of reduced glutathione, catalase, and products reacting with thiobarbituric acid were determined in liver homogenates, levels of erythrocyte catalase, total antioxidant activity, glutathione peroxidase, glutathione transferase, and products reacting with thiobarbituric acid – in blood. Statistical analysis was performed by parametric statistics, regression and factor analysis.

Results. Rats with different resistance to hypoxia initially differed significantly on the number of safety systems functioning indicators levels in liver tissue and blood cells. Total factor analysis of the entire body of empirical data revealed two factors, conventionally called «resistance to hypoxia» and «antioxidant activity of blood». Daily analysis of the figures recorded at 1, 3, 5, 7, 14, 21 and 35 day of the experiment revealed similarities in common and daily factor solutions, demonstrating the objectivity of the revealed patterns, which emphasizes the significant role of free radical oxidation in anoxic conditions pathogenesis.

Conclusion. The balance pro- and antioxidant systems activity in the liver and blood is an essential component of the body's resistance to hypoxia affecting the survival of the animals after systemic circulation arrest. Their level predicts resistance to hypoxia at the recovery period.

Keywords: hypoxia, free radical oxidation, liver, rats, blood antioxidant activity.

В фокусе большинства работ, посвящённых изучению устойчивости животных к циркуляторной гипоксии, находятся структурные и метаболические изменения в различных отделах мозга, возникающие непосредственно после гипоксического воздействия. Не уделяется должное внимание чувствительности других органов, недостаточно исследуются особенности восстановления их функций в отдалённые сроки после реанимации (7, 10, 30 дней). Между тем, одно и то же гипоксическое воздействие в разных органах может вызвать ответ различной интенсивности, имеющий различную динамику, что необходимо учитывать в целях повышения эффективности терапии [4].

В основе различий в ответной реакции организма на экстремальные воздействия лежат генетически детерминированные физиолого-биохимические реакции, имеющие в ряде случаев выраженную тканеспецифичность [5, 8, 9]. Печень в силу своей особой роли в метаболических процессах организма весьма уязвима к действию различных патогенных факторов. Ишемия с последующей реперфузией, будучи универсальным механизмом клеточного повреждения [2], значительно усиливает образование свободных радикалов, повреждающих мембраны клеток, в том числе гепатоцитов, и нарушающих нормальное течение метаболических процессов. Поскольку непосредственное изучение активности про- и антиоксидантных систем в печени в клинических условиях невозможно, исследователи ограничены рамками биохимического анализа крови.

Вышесказанное делает актуальной цель настоящей работы – изучение взаимозависимости показателей свободнорадикального окисления в печени и крови крыс с различной резистентностью к гипоксии в длительной динамике после ишемического повреж-

дения, вызванного остановкой системного кровообращения.

Серия экспериментов выполнена на 320 половозрелых самцах неинбредных белых крыс с массой тела 150–180 г после предварительного тестирования на резистентность к гипоксии.¹ По итогам тестирования все животные были разделены на три группы – неустойчивые, среднеустойчивые и высокоустойчивые к гипоксии. Группы включали по 70 опытных и 10 контрольных крыс.

Через неделю после тестирования под эфирным наркозом моделировали 5-минутную аноксию интраторакальным пережатием сосудистого пучка сердца по методу [7] с последующей реанимацией с помощью наружного массажа сердца и искусственной вентиляции лёгких.

Контрольная группа крыс после тестирования на устойчивость к гипоксии подвергалась эфирному наркозу без моделирования аноксии.

В 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 14-е, 21-е, 35-е сутки после оживления проводили забой животных.

Активность каталазы определяли с помощью методики [6], содержание восстановленного глутатиона в гомогенатах печени, продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-рп), – с помощью набора реактивов «ТБК-АГАТ». Определение в сыворотке крови α -глутатион-S-трансфераз проводили с использованием стандартных диагностических наборов «Biotrin High Sensitivity Alpha GST EIA» («Biotrin», США), общей антиоксидантной активности и глутатионпероксидазы – с помощью стандартных тест-наборов фирмы «Randox Laboratories» (Великобритания). Использовали методы параметрической статистики, отношения между переменными исследовали с помощью регрессионного и факторного анализа.

¹Байбурина Г.А., Нургалева Е.А., Шибкова Д.З., Башкатов С.А. Способ определения степени устойчивости к гипобарической гипоксии мелких лабораторных животных. Заявка №20141377/14 с приоритетом от 17.09.2014.

Результаты факторного анализа показателей за весь период эксперимента

Показатели	Фактор I	Фактор II	Фактор III
Сутки эксперимента		-0,862	
Устойчивость к гипоксии	0,931		
ТБК-рп печени	0,789		
Восстановленный глутатион печени	0,743		
Каталаза печени	0,858		
ТБК-рп сыворотки крови	0,567		0,465
Каталаза эритроцитов	0,707		
Глутатионпероксидаза сыворотки крови		-0,766	
Глутатионтрансфераза сыворотки крови			-0,775
Общая антиоксидантная активность сыворотки крови		-0,553	0,663
Собственное значение фактора	3,839	1,875	1,142
Доля общей дисперсии	0,384	0,187	0,114

Примечание: ТБК-рп – продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой.

До моделирования аноксии крысы с разной устойчивостью к гипоксии статистически значимо различались по уровню функционирования ряда показателей защитных систем в клетках тканей печени. Так, содержание восстановленного глутатиона было выше у высокоустойчивых животных в сравнении со среднеустойчивыми на 6,4% ($p < 0,05$), с неустойчивыми – на 22% ($p < 0,001$); активность каталазы у высокоустойчивых в сравнении с неустойчивыми выше на 14,2% ($p < 0,01$). Активность процессов перекисного окисления липидов по уровню накопления ТБК-рп также была выше у высокоустойчивых животных по сравнению с неустойчивыми на 16,6% ($p < 0,01$), у среднеустойчивых по сравнению с неустойчивыми к гипоксии – на 15,6% ($p < 0,05$).

В показателях крови контрольных животных всех групп значимых различий мы не обнаружили, кроме активности каталазы эритроцитов: она была значимо выше у высокоустойчивых животных по сравнению со среднеустойчивыми – на 9,1% ($p < 0,01$), по сравнению с неустойчивыми к гипоксии – на 24,8% ($p < 0,01$).

В результате факторного анализа всего массива эмпирических данных получилась матрица факторных нагрузок, содержащая три фактора, объясняющих в совокупности 68,5% дисперсии значений первичных переменных (табл. 1). Количество факторов определялось с учётом правила «каменистой осыпи» и критерия Кайзера [3].

В фактор I (доля общей дисперсии 38,4%) вошли со значимыми факторными нагрузками шесть из 10 показателей: устойчивость к гипоксии, все показатели свободнорадикального окисления печени и два – крови.

Принимая во внимание, что в этот фактор с большой факторной нагрузкой вошёл с положительным знаком показатель «устойчивость к гипоксии» (0,931) и с эти же знаком – все остальные показатели свободнорадикального окисления печени и крови, то можно сделать вывод, что фактор I описывает латентную переменную «устойчивость к гипоксии». Таким образом, ключевые процессы, влияющие на устойчивость организма к гипоксии, – доведённое до конечных продуктов перекисное окисление липидов, активность антиоксидантных ферментов и уровень их субстратов.

В фактор II (доля общей дисперсии 18,7%) со значимым весом и одинаковым знаком вошли три показателя – сутки эксперимента, активность глутатионпероксидазы и общая антиоксидантная активность сыворотки крови. Это свидетельствует о том, что по мере увеличения срока эксперимента пропорционально возрастает активность глутатионпероксидазы и общая антиоксидантная активность крови. Очевидно, это свидетельствует о резистентности организма к последствиям аноксии, и фактор II можно назвать «антиоксидантная активность крови».

Фактор III с долей общей дисперсии 11,4% объединяет три показателя крови (ТБК-рп и общую антиоксидантную активность – с положительным знаком, α -глутатион-S-трансферазу – с отрицательным знаком). В отличие от первых двух факторов, имеющих простую структуру, при которой в каждый фактор входят разные переменные, фактор III содержит общие факторные нагрузки с фактором I (ТБК-рп) и фактором II (общая антиоксидантная активность). По

Результаты факторного анализа показателей на 5-е, 14-е и 35-е сутки эксперимента

Показатели	5-е сутки		14-е сутки		35-е сутки	
	Фактор I	Фактор II	Фактор I	Фактор II	Фактор I	Фактор II
Устойчивость к гипоксии	0,962		0,971		0,92	
ТБК-рп печени	0,71		0,723		0,838	
Восстановленный глутатион печени	0,822		0,848		0,872	
Каталаза печени	0,898		0,849		0,905	
ТБК-рп сыворотки крови	0,413		0,741		0,713	
Каталаза эритроцитов	0,849		0,75			
Глутатионпероксидаза сыворотки крови		-0,652		0,811		-0,722
Глутатионтрансфераза сыворотки крови			0,579			-0,853
Общая антиоксидантная активность сыворотки крови	0,59			0,684	0,426	
Собственное значение фактора	4,254	1,249	4,724	1,301	4,085	1,575
Доля общей дисперсии	0,473	0,139	0,525	0,145	0,454	0,175

Примечание: ТБК-рп – продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой.

этой причине мы не стали интерпретировать фактор III.

Нами был проведён факторный анализ показателей на 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 14-е, 21-е и 35-е сутки эксперимента. На все сутки эксперимента наблюдалось приблизительно одинаковое факторное решение анализируемых данных. В качестве примера приводим типичное факторное решение на 5-е, 14-е и 35-е сутки эксперимента (табл. 2).

Представляется важным, что вышеописанное факторное решение (см. табл. 1), характеризующее взаимозависимость показателей в течение всего исследования, в своих основных чертах наблюдалось при посуточном анализе.

Так, при посуточном анализе выявлялись два фактора (см. табл. 2). В первый входила устойчивость к гипоксии, показатели свободнорадикального окисления печени и крови. Во второй фактор вошли показатели антиоксидантной системы крови. Сходство общего и посуточных факторных решений свидетельствует об объективности выявленных закономерностей и позволяет подчеркнуть существенную роль в патогенезе аноксических состояний процессов свободнорадикального окисления.

Анализ результатов факторного анализа свидетельствует о том, что устойчивость к гипоксии в нашем эксперименте зависит от баланса про- и антиоксидантных систем – высокая активность перекисного окисления липидов сопровождается адекватным усилением активности антиоксидантных систем как в печени, так и в

крови, что во многом согласуется с литературными данными [1, 7].

Большие значения вычисленных факторных нагрузок, приближающихся по абсолютному значению к единице (см. табл. 1), позволяют прогнозировать по выраженности степень устойчивости к гипоксии по значениям показателей, вошедших в фактор I. С этой целью мы рассчитали уравнения линейной регрессии (1, 2), в которых независимыми переменными выступили биохимические показатели крови, а зависимой переменной – устойчивость к гипоксии.

$$\text{Устойчивость к гипоксии} = 1,3298 + 0,415 \times \text{ТБК-рп сыворотки крови} \quad (1)$$

$$\text{Устойчивость к гипоксии} = 0,8638 + 0,0041 \times \text{каталаза эритроцитов} \quad (2)$$

Из уравнений линейной регрессии (1) и (2) следует, что по уровню ТБК-рп и активности каталазы эритроцитов можно прогнозировать устойчивость к гипоксии организма в целом.

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.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грек О.Р., Шараров В.И., Тихонова Е.В. и др. Влияние острой гипоксии на антиоксидительную активность ткани печени у крыс с разной устойчивостью к гипоксии // *Вестн. нов. мед. технол.* — 2011. — Т. 18, №4. — С. 62-64. [Grek O.R., Shararov V.I., Tichonova E.V. et al. The effect of acute hypoxia on the antioxidant activity of hepatic tissues in rats with different resistance to oxygen deficiency. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy.* 2011; 18 (4): 62-64. (In Russ.)]
2. Гринев М.В., Бромберг Б.Б. Ишемия-реперфузия — универсальный механизм патогенеза критических состояний в неотложной хирургии // *Вестн. хир. им. И.И. Грекова* — 2012. — Т. 171, №4. — С. 94-100. [Grinyov M.V., Bromberg B.B. Ischemia-perfusion — a universal mechanism of pathogenesis of critical states in emergency surgery. *Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova.* 2012; 171 (4): 94-100. (In Russ.)]
3. Двоерядкина Н.Н., Чалкина Н.А. Факторный анализ при исследовании структуры данных // *Вестн. АМГУ. Сер. Естеств. и экон. науки.* — 2011. — №53. — С. 11-15. [Dvoeryadkina N.N., Chalkina N.A. Factor analysis at data structure processing. *Vestnik Amurskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Estestvennye i ekonomicheskie nauki.* 2011; 53: 11-15. (In Russ.)]
4. Жуклова А.Г., Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В., Волков А.В. Половые различия в про- и антиоксидантной системах головного мозга в отдалённом постреанимационном периоде (экспериментальное исследование) // *Общ. реаниматол.* — 2010. — Т. VI, №4. — С. 54-57. [Zhukova A.G., Sazonova T.G., Arkhipenko Yu.V., Volkov A.V. Gender differences in the pro- and antioxidant systems of the brain in the late postresuscitative period (an experimental study). *Obshchaya reanimatologiya.* 2010; 6 (4): 54-57. (In Russ.)]
5. Комелькова М.В., Козочкин Д.А., Мишарина М.Е. и др. Влияние иммунизации на уровень молекулярных продуктов перекисного окисления липидов и карбонилирование белков в плазме крови и в иммунных органах у крыс с различной устойчивостью к гипоксии // *Вестн. ЮУрГУ. Сер. «Образование, здравоохранение, физическая культура».* — 2014. — Т. 14, №1. — С. 69-72. [Kornelkova M.V., Kozochkin D.A., Misharina M.E. et al. Effect of immunization on molecular products of lipid peroxidation level and carbonilated proteins content in plasma and immune organs in rats with different hypoxia resistance. *Vestnik Yuzhno-Ural'skogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Obrazovanie, zdravookhraneniye, fizicheskaya kul'tura.* 2014; 14 (1): 69-72. (In Russ.)]
6. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // *Лаб. дело.* — 1988. — №1. — С. 16-18. [Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G. The method for determining catalase activity. *Laboratornoye delo.* 1988; 1: 16-18. (In Russ.)]
7. Корпачев В.Г., Лысенков С.П., Тель Л.З. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс // *Патол. физиол. и эксперим. терап.* — 1982. — №3. — С. 78-80. [Korpachev V.G., Lysenkov S.P., Tell' L.Z. Modelling the clinical death and postresuscitation disease in rats. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 1982; 3: 78-80. (In Russ.)]
8. Ксейко Д.А., Генинг Т.П. Процессы перекисного окисления липидов и защитная роль антиоксидантной системы в печени и эритроцитах в условиях острой кровопотери // *Фунд. иссл.* — 2012. — №9-2. — С. 304-307. [Kseyko D.A., Gening T.P. Lipid peroxidation processes and protective role of the Antioxidant system in liver and in erythrocytes in the case of acute blood loss. *Fundamental'nye issledovaniya.* 2012; 9-2: 304-307. (In Russ.)]
9. Хачатурьян М.Л., Гукасов В.М., Комаров П.Г. и др. Сравнительная оценка показателей перекисного окисления липидов сердца, печени и мозга крыс с различной устойчивостью к гипоксии // *Биол. эксперим. биол. и мед.* — 1996. — Т. 121, №2. — С. 138-143. [Khachaturyan M.L., Gukasov V.M., Komarov P.G. Comparative assessment of lipid peroxidation indicators in heart, liver and brain in rats with different resistance to hypoxia. *Vyulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 1996; 121 (2): 138-143. (In Russ.)]

УДК 612.084: 616.71-007.234: 616.379-008.64: 615.272

ВЛИЯНИЕ ХОНДРОИТИНА СУЛЬФАТА НА ОБМЕН КОЛЛАГЕНА I ТИПА В КОМПАКТНОЙ КОСТНОЙ ТКАНИ У АЛЛОКСАН-ИНДУЦИРОВАННЫХ КРЫС

Василий Алексеевич Вяткин*, Евгений Германович Бутолин, Вадим Геннадьевич Иванов

Ижевская государственная медицинская академия, г. Ижевск, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-802

Цель. Изучение обмена коллагена I типа в компактной костной ткани у крыс при аллоксановом диабете, протекающем на фоне введения сульфатированных форм гликозаминогликанов.

Методы. Исследование проведено на 67 беспородных белых крысах-самцах с массой тела 180-220 г. Летальность в ходе моделирования диабета составила 44,8%. Для выяснения роли экзогенных гликозаминогликанов в обмене костного коллагена при сахарном диабете 16 животным на фоне аллоксанового диабета вводили внутримышечно хондроитина сульфат в дозе 1 мг/кг массы тела через день, в другой группе (21 животное) хондроитина сульфат на фоне аллоксанового диабета не вводили. Контролем служили 10 интактных животных, которым однократно ввели 0,5 мл 0,9% раствора натрия хлорида. В гомогенатах диафиза бедренной кости определяли уровень маркёров обмена коллагена I типа (аминотерминальный пропептид проколлагена I типа — маркёр формирования костной ткани; β-изомеризованный карбокситерминальный участок коллагена I типа с поперечными сшивками — маркёр резорбции костной ткани) и количество суммарного коллагена.

Результаты. Введение аллоксана животным привело к развитию сахарного диабета. Концентрация аминокетонального пропептида проколлагена I типа и β-изомеризованного карбокситерминального участка коллагена I типа с поперечными сшивками была значительно выше у аллоксан-индуцированных крыс на фоне введения