

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

БАЙБУРИНА ГУЛЬНАР АНУЗОВНА

**МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ АДАПТАЦИОННО-КОМПЕНСАТОРНЫХ
ПРОЦЕССОВ В ПОСТРЕАНИМАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ У ЖИВОТНЫХ В
ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ
К ГИПОКСИИ**

14.03.03 – патологическая физиология

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинских наук
Е.А. Нургалеева

Уфа – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
Глава 1. Обзор литературы.....	14
1.1.Современные представления о механизмах гипоксического поврежде- ния тканей.....	14
1.2. Функционирование гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы при действии экстремальных факторов.....	25
1.3. Механизмы резистентности к гипоксии.....	35
1.4. Патофизиологические основы применения комплексных энергосбе- регающих антигипоксических средств в коррекции гипоксических состо- яний	47
Глава 2. Материалы и методы исследования.....	57
2.1. Методы экспериментального моделирования.....	57
2.2. Методы анализа экспериментальных данных.....	63
2.2.1. Исследование неврологического статуса, функций высшей нерв- ной деятельности и поведенческих реакций.....	63
2.2.2. Изучение гормонального профиля плазмы крови.....	66
2.2.3. Изучение содержания глюко- и минералокортикоидных рецепто- ров.....	67
2.2.4. Оценка состояния прооксидантно-антиоксидантной системы.....	67
2.2.5. Морфологические методы исследования.....	70
2.2.6. Статистические методы исследования.....	71
Глава 3. Особенности нейрофизиологических механизмов восстановления функций высшей нервной деятельности и морфологических изменений в коре головного мозга в постреанимационном периоде после остановки си- стемного кровообращения в зависимости от исходной устойчивости жи- вотных к гипоксии	72
3.1. Особенности нейрофизиологических механизмов восстановления функций высшей нервной деятельности.....	72
3.2. Особенности морфологических изменений в коре головного мозга...	82
Глава 4. Вовлечение кортикостероидных рецепторов в механизмы адапта- ционно-компенсаторных процессов в постреанимационном периоде после остановки системного кровообращения у животных в зависимости от ис- ходной устойчивости к гипоксии.....	99
4.1. Динамика содержания центральных кортикостероидных рецепто- ров в гиппокампе и гормонов гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы в плазме крови.....	99
4.2. Динамика содержания периферических кортикостероидных рецепторов...	107

Глава 5. Особенности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в тканях крыс в зависимости от исходной устойчивости к гипоксии в динамике постреанимационного периода	122
5.1. Особенности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в ткани мозга	122
5.2. Особенности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в ткани миокарда.....	129
5.3. Особенности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в ткани легких.....	133
5.4. Особенности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в ткани почек.....	138
5.5. Особенности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в ткани печени.....	144
5.6. Особенности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в крови.....	149
Глава 6. Влияние цитофлавина на показатели функций высшей нервной деятельности, оксидативного статуса и гормонального профиля экспериментальных животных с разной устойчивостью к гипоксии в динамике постреанимационного периода.....	157
6.1. Влияние цитофлавина на особенности нейрофизиологических механизмов восстановления функций высшей нервной деятельности.....	157
6.2. Влияние цитофлавина на гормональный профиль плазмы крови и содержание центральных и периферических кортикостероидных рецепторов.....	167
6.3. Влияние цитофлавина на состояние свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты.....	181
Глава 7. Обсуждение результатов.....	205
Заключение.....	253
Выводы.....	261
Список сокращений.....	264
Список литературы.....	265

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Профилактика и терапия постреанимационных осложнений, полноценное восстановление после тяжелой ишемии является одной из важнейших задач фундаментальной медицины [2; 20; 59]. Внезапное прекращение эффективного кровообращения может быть следствием выраженных нарушений гомеостаза, обусловленных поражением не только сердечно-сосудистой системы, но и других органов [40]. Патология, связанная с острым нарушением кровообращения органов и последующей их дисфункцией, занимает ведущее место в структуре смертности во всем мире [33; 63; 101]. По данным Американской Ассоциации сердца (2014 г.) после внезапной остановки сердца во внегоспитальных условиях выживает только 12% [230], а в условиях госпиталя 25% пациентов [273]. Кардиоваскулярная смертность в России среди лиц трудоспособного возраста в 3-6 раз выше, чем в странах Евросоюза [17; 18; 147].

По-прежнему актуальна проблема ишемического повреждения мозговой ткани, что объясняется широким распространением патологии, а также высокими показателями временной нетрудоспособности и первичной инвалидизации. Ишемия головного мозга занимает второе место среди причин смертности в Российской Федерации, около половины больных с этой патологией умирает в течение первого года после постановки диагноза [102]. Высокой летальностью сопровождаются также черепно-мозговые травмы [128; 171], ишемическая острая почечная недостаточность [34], острый панкреатит [103].

В основе развития большинства критических состояний лежат два взаимосвязанных процесса – гипоксия, с одной стороны, и реоксигенация, с другой [39; 120]. Гипоксия, прогрессивно нарастающая во время клинической смерти, является пусковым фактором развития сложного комплекса патологических [68; 134] и компенсаторно-приспособительных реакций [47; 65]. Восстановление кровообращения и самостоятельного дыхания в раннем периоде оживления не приводит к быстрой нормализации кислородного режима организма [104]; длительно сохра-

няется централизация кровообращения, ограничивающая доставку кислорода к внутренним органам [47]. Тотальная гипоксия органов и тканей, развивающаяся во время клинической смерти, и последующая реперфузия при оживлении приводят к возврату токсических метаболитов в общий кровоток с развитием системных осложнений [169].

Системные осложнения, вызванные остановкой кровообращения, после успешной реанимации развиваются более чем у 80% пациентов, из которых только 20% выживают в течение полугода [102]. Основной причиной летальности является функциональная несостоятельность различных органов, ведущим механизмом формирования которой считается системное нарушение микроциркуляции, приводящее к развитию циркуляторной и гемической гипоксии с развитием энергодефицита клеток различных органов [97; 103]. Наибольшую опасность для жизнедеятельности представляют неврологические нарушения, которые могут быть отсрочены, а также нарушения функции сердца и почек [39; 102].

Несмотря на очевидные различия триггерных механизмов, внезапная остановка кровообращения вызывает развитие тяжелой повреждающей гипоксии с метаболическими сдвигами, которые в биологических системах достаточно стереотипны: активизация процессов гликолиза, липолиза, протеолиза, развитие метаболического ацидоза, разобщение окислительного фосфорилирования и свободного дыхания, подавление энергозависимых реакций в клетках и ряд других [45; 140; 155]. Однако степень повреждения и возможности восстановления организма после гипоксического воздействия чрезвычайно вариабельны.

В любой популяции неинбредных животных существуют особи, отличающиеся по устойчивости к гипоксии [14; 60]. Защитно-компенсаторный ответ на острую гипоксию и его нейрогуморальная регуляция у животных с различной устойчивостью к гипоксии различаются в широком диапазоне параметров, которые сохраняются на системном, тканевом, клеточном и субклеточном уровнях и, безусловно, могут определять выживаемость животных после тяжелой острой гипоксии и восстановление функций [50; 122]. В основе различий в ответной реакции организма на экстремальные воздействия лежат генетически детерминиро-

ванные физиолого-биохимические реакции, имеющие в ряде случаев выраженную ткане- и органоспецифичность [135; 146]. Исследованиями Лукьяновой Л.Д. и соавт. (2000, 2004) [83; 85; 86; 87] установлены генетически детерминированные различия в функционировании митохондриального ферментного комплекса I дыхательной цепи, выявляющиеся во всех тканях животных с разным фенотипом устойчивости к гипоксии. Соответственно, функциональные и метаболические последствия дефицита кислорода в организме могут иметь свои особенности, влияющие на выживаемость и характер течения постреанимационного периода у животных, устойчивых и неустойчивых к гипоксии, однако такого рода комплексные исследования нами в литературе не обнаружены. Поэтому выяснение закономерностей и механизмов развития адаптивных и патологических процессов в зависимости от устойчивости к гипоксии является основой для разработки новых подходов и технологий для профилактики и терапии постреанимационных осложнений.

При реперфузии кислород из жизненно необходимого компонента физиологических реакций окислительного метаболизма превращается в участника патологических окислительных реакций [120]. Бимодальный механизм ишемии-реперфузии усугубляет дистрофические и некробиотические изменения клеток и приводит к масштабным последствиям, описываемым в литературе как оксидативный стресс [39; 102]. Уже в первые минуты и часы после патогенного воздействия формируется тяжелая тканевая гипоксия с нарушением кислородтранспортной функции дыхательной цепи [82; 84] и активацией свободнорадикального окисления липидов. Быстрое истощение антиоксидантных систем вызывает развитие тяжелого окислительного стресса, что сопровождается окислительной модификацией различных структур клеток организма с изменением их функций [50; 94; 135].

Реализация адаптивно-компенсаторных реакций при острой гипоксии требует координации большого количества метаболических процессов, включая свободнорадикальное окисление (СРО), осуществляемой при участии гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы (ГГАС) [4; 116]. Отклонения в функциональ-

ном состоянии нейроэндокринной системы, зависящие от скорости, вида и интенсивности стрессорного воздействия, а также дизрегуляция механизмов обратной связи, вызывают развитие дезадаптивных состояний, приводящих, в ряде случаев, к гибели организма [138; 389]. Кортикостероиды через активацию кортикостероидных рецепторов обеспечивают отрицательную обратную связь для ГГАС [359; 424]. Особенности гормональной адаптивной системы и окислительных процессов [5; 116], гормон-рецепторных взаимоотношений в жизненно важных органах могут обуславливать изменения, характерные для организмов с разной устойчивостью к гипоксии, и определять прогноз после реанимации. Однако в настоящее время данные о взаимном влиянии механизмов нейрогуморальной регуляции и СРО после перенесенной тяжелой гипоксии все еще недостаточны и зачастую разрозненны. Поэтому актуальным представляется проведение комплексного исследования механизмов нейрогуморальной и метаболической компенсации у животных с различными формами индивидуальной резистентности к гипоксии, влияющих на выживаемость и восстановление функций после реанимации.

Цель исследования: выявление механизмов, обуславливающих особенности реализации адапционно-компенсаторных процессов в постреанимационном периоде у животных с разной устойчивостью к гипоксии.

Задачи исследования:

1. Выявить особенности нейрофизиологических механизмов восстановления функций высшей нервной деятельности у крыс в зависимости от резистентности к гипоксии при 35-суточном мониторинге после моделирования остановки системного кровообращения, сопоставить их с динамикой центральных кортикостероидных рецепторов.
2. Охарактеризовать гистологические и иммуногистохимические особенности ишемически-реперфузионных повреждений коры головного мозга у крыс с разной устойчивостью к гипоксии.
3. Выявить особенности динамики гормонов гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы у крыс с разной устойчивостью к гипоксии в постреанима-

ционном периоде во взаимосвязи с изменениями содержания центральных глюко- и минералокортикоидных рецепторов.

4. Оценить влияние перенесенного критического состояния на динамику содержания центральных и периферических глюко- и минералокортикоидных рецепторов в жизненно важных органах у животных с разной устойчивостью к гипоксии.

5. Выявить особенности свободнорадикального окисления и состояния антиоксидантной защиты в гомогенатах тканей и крови в восстановительном периоде после реанимации у крыс с различной устойчивостью к гипоксии и сопоставить их с изменениями гормонального профиля и содержания центральных и периферических кортикостероидных рецепторов.

6. Оценить эффективность патогенетически направленного действия препарата с комплексным антигипоксическим и антиоксидантным действием на показатели функций высшей нервной деятельности, оксидативного статуса и гормонального профиля экспериментальных животных с разной устойчивостью к гипоксии в динамике постреанимационного периода.

Новизна исследования

Впервые в динамике постреанимационного периода после остановки системного кровообращения выявлены разнонаправленные изменения нейроэтологических показателей, характеризующих эмоциональную тревожность: у крыс с высокой резистентностью к гипоксии отмечается прогрессирующее усиление тревожности, у животных с низкой устойчивостью – подавление. Впервые выявлена корреляционная связь показателей, характеризующих эмоциональную тревожность, и маркеров окислительного стресса в ЦНС. Установлена сопряженность динамики содержания глюко- и минералокортикоидных рецепторов и их соотношения в гиппокампе и эмоциональной компоненты поведенческих реакций, прослеживающаяся в ходе всего восстановительного периода.

Впервые выявлены особенности в реакции гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы на действие гипоксии, обусловленной остановкой системного кровообращения, и последующей реоксигенации крыс с разным типом устойчивости к гипоксии. Показано, что в основе дисрегуляции механизмов об-

ратной связи у низкоустойчивых к гипоксии животных лежат нарушения функциональных взаимоотношений центральных кортикостероидных рецепторов, проявляющиеся резким снижением уровня минералокортикоидных и превалированием содержания глюкокортикоидных рецепторов. Установлено, что на функциональность центральных кортикостероидных рецепторов оказывают влияние особенности окислительного стресса в ЦНС, сопряженные с устойчивостью к гипоксии. У низкоустойчивых к гипоксии крыс, в отличие от высокоустойчивых, в ЦНС наблюдается преобладание процессов окислительной модификации белков, что отражается на содержании и чувствительности центральных кортикостероидных рецепторов.

Получены новые данные, характеризующие особенности свободнорадикальных процессов в тканях после перенесенного критического состояния и их взаимосвязи с гормональными изменениями, с динамикой уровня периферических кортикостероидных рецепторов и степенью устойчивости к гипоксии. Выявлена реципрокность динамики окислительной модификации белков и липопероксидации, сохраняющаяся на всем протяжении постреанимационного периода во всех исследованных тканях: у высокоустойчивых к гипоксии животных свободнорадикальной деструкции подвергаются в большей степени липиды, а у низкоустойчивых – белки. Показано, что на динамику содержания кортикостероидных рецепторов в тканях, их соотношение и функциональность оказывает влияние интенсивность окислительного стресса. Высокая напряженность карбонильного стресса у животных неустойчивых к гипоксии в раннем постреанимационном периоде вызывает значительное снижение уровней глюко- и минералокортикоидных рецепторов, сопровождаемое их десенситизацией; в позднем постреанимационном периоде баланс рецепторов резко сдвигается в сторону преобладания минералокортикоидных рецепторов. Установлено, что высокая конститутивная устойчивость к гипоксии в раннем постреанимационном периоде обеспечивает в периферических тканях экранирование биомолекул от окислительного повреждения и сохранение чувствительности рецепторного аппарата к гормональной стимуля-

ции, а в позднем – способствует адаптивному смещению рецепторного баланса в пользу глюкокортикоидных рецепторов.

Показан положительный эффект применения препарата с комплексным антигипоксическим и антиоксидантным действием в восстановительном периоде после остановки кровообращения. Установлено, что использование препарата в этих условиях приводит к ингибированию процессов свободнорадикального окисления, повышению активности основных антиоксидантных ферментов. Впервые показано, что применение препарата с комплексным антигипоксическим и антиоксидантным действием способствует нормализации функциональных взаимоотношений в ГГАС, а также гормон-рецепторного взаимодействия.

Научная и практическая значимость

Установлено, что особенности реализации адаптационно-компенсаторных процессов в постреанимационном периоде у животных, отличающихся по исходной чувствительности к гипоксии, связаны с нарушением баланса кортикостероидных рецепторов в гиппокампе и периферических тканях.

Установлена ведущая роль свободнорадикального механизма в расстройствах кортикостероидной рецепции, нарушающих адаптивную глюкокортикоидную регуляцию и усугубляющих дестабилизацию гомеостаза с высоким риском развития системных осложнений.

В приложении к животным с разной устойчивостью к гипоксии показана роль центральных и периферических кортикостероидных рецепторов в патогенезе дисфункции гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы. Полученные данные позволяют дополнить и расширить известную функционально-метаболическую характеристику животных устойчивых и неустойчивых к гипоксии динамическими особенностями функционирования рецепторов, осуществляющих реализацию эффектов адаптивных кортикостероидных гормонов. Результаты исследования могут быть использованы в разработке новых протоколов терапии препаратами экзогенных глюкокортикоидов, а также блокаторами кортикостероидных рецепторов.

Совокупность данных, характеризующих особенности динамики уровня альдостерона и соотношения интенсивности липопероксидации и окислительной модификации белков в крови, может быть использована в качестве прогностических критериев устойчивости к гипоксии.

Показано, что эффективность фармакологической коррекции нарушений, возникающих в постреанимационном периоде, препаратом с комплексным антигипоксическим и антиоксидантным действием зависит от устойчивости к гипоксии и подтверждает свободнорадикальный механизм формирования дезадаптации. Изменения гормон-рецепторного взаимодействия на фоне патогенетической терапии носят адаптивный характер, выраженность которого зависит от фенотипа устойчивости к гипоксии.

Внедрение в практику

Результаты работы используются в научной и учебной работе кафедр нормальной физиологии, патофизиологии Башкирского государственного медицинского университета, физиологии и общей биологии Башкирского государственного университета, кафедры общей биологии и физиологии Южно-Уральского государственного гуманитарно-педагогического университета, кафедры патофизиологии Южно-Уральского государственного медицинского университета, кафедры патофизиологии Казанского государственного медицинского университета.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Тяжелая гипоксия, вызванная пятиминутной остановкой системного кровообращения, вызывает развитие выявляемых на всем протяжении 35-суточного мониторинга структурных, гормональных, нейрофизиологических нарушений, выраженность которых зависит от исходной чувствительности к гипоксии.
2. Интенсивность свободнорадикального окисления после перенесенного критического состояния и реанимации имеет особенности, связанные с устойчивостью к гипоксии: у животных с исходно низкой устойчивостью к гипоксии преобладают процессы окислительной модификации белков, а с высокой – перекисное окисление липидов. Выявленные закономерности прослеживаются во всех исследованных тканях.

3. На стрессовую трансформацию гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы в пострелаксационном периоде оказывают влияние изменения содержания и соотношения центральных кортикостероидных рецепторов.
4. Особенности реализации адаптационно-компенсаторных процессов в пострелаксационном периоде у животных, отличающихся по исходной чувствительности к гипоксии, связаны с нарушением баланса кортикостероидных рецепторов в периферических тканях.
5. Применение препарата с комплексным антигипоксическим и антиоксидантным действием в качестве средства патогенетической коррекции способствует нормализации функций высшей нервной деятельности, показателей оксидативного статуса, гормонального профиля и гормон-рецепторных функциональных взаимоотношений.

Степень достоверности, личное участие автора

Представленные в работе данные получены лично автором или при его непосредственном участии во всех этапах экспериментальных исследований. Достоверность научных результатов и обоснованность выводов подтверждается достаточным объемом экспериментальных исследований, использованием современных методов, адекватных поставленным целям и задачам, актами внедрения результатов работы в учебный процесс и проверки первичной документации; статистической обработкой полученных данных и публикацией материалов диссертации в статьях, докладах на научных конференциях.

Апробация результатов

Основные положения работы изложены и представлены на межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы патологии» (Уфа, 2004); на международной конференции «О результатах и перспективах научной и инновационной деятельности кафедр БГМУ» (Уфа, 2012); на V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Вопросы патогенеза типовых патологических процессов» (Новосибирск, 2013); на международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (Санкт-Петербург, 2015);

на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биохимические научные чтения памяти акад. РАН Е.А. Строева» (Рязань, 2016); на 1 международной научно-практической конференции «Современные проблемы развития фундаментальных и прикладных наук» (Praga, Czech Republic, 2016); на международной научно-практической конференции «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» (Челябинск, 2016); на VII и X Российских научно-практических конференциях «Здоровье человека в XXI веке» (Казань, 2015, 2018).

Публикации

Соискатель имеет 110 опубликованных работ, из них по теме диссертации – 35 научных работ общим объемом 168 страниц, в том числе 21 статья в научных журналах и изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций, а также 2 патента на изобретение. 11 работ опубликованы в материалах всероссийских и международных конференций.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 315 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, 4 глав собственных исследований, обсуждения результатов, заключения и выводов.

Библиографический указатель включает 444 источника, из них 177 на русском языке, 267 – на иностранном. Работа содержит 34 таблицы, 54 рисунка.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления о механизмах гипоксического повреждения тканей

Все критические состояния, особенно вызванные острым нарушением кровообращения, так или иначе связаны с развитием кислородной недостаточности и нарушением энергетического баланса организма, который можно обозначить как биоэнергетическую гипоксию. Биоэнергетическая (тканевая) гипоксия возникает вследствие уменьшения напряжения кислорода ниже его критического уровня при снижении активности внутриклеточных дыхательных ферментов и характеризуется резким сокращением интенсивности синтеза макроэргов и падением функциональной активности клеток [82].

Важно, что тканевая биоэнергетическая гипоксия, завершая развитие фактически любой формы кислородной недостаточности, формирует смешанный тип гипоксии, вызывающий тяжелые последствия вследствие массовой гибели клеток по механизму гипоксического некробиоза [52; 82].

В гипоксическом повреждении клетки исследователи условно выделяют несколько стадий (рисунок 1) [52], суть которых сводится к обусловленному недостатком кислорода повреждению механизмов окислительного фосфорилирования вследствие последовательных фазных нарушений свойств митохондриальных ферментных ансамблей I-IV, заканчивающихся ингибированием цитохромоксидазы и утратой способности образования АТФ. Компенсаторная активация АТФ-потребляющих метаболических путей (сукцинатоксидазного пути) также истощает внутриклеточный резерв АТФ. Это влечет за собой подавление всех энергозависимых процессов, регулирующих функционально-метаболические параметры и контролирующей жизнедеятельность клетки. Результатом снижения уровня энергообеспечения метаболических процессов являются деполяризация и лабилизация клеточных мембран, активация свободнорадикальных процессов, повышение проницаемости внутренней митохондриальной мембраны и т.д. Создаются усло-

вия для инициации перекисного окисления липидов (ПОЛ), что имеет самостоятельное значение в механизмах гипоксического повреждения. Переключение энергообразования на гликолиз приводит к метаболическому ацидозу, нарушение работы ионных обменников вызывает гиперкалиемию, формирование внутриклеточной гипергидратации [52].

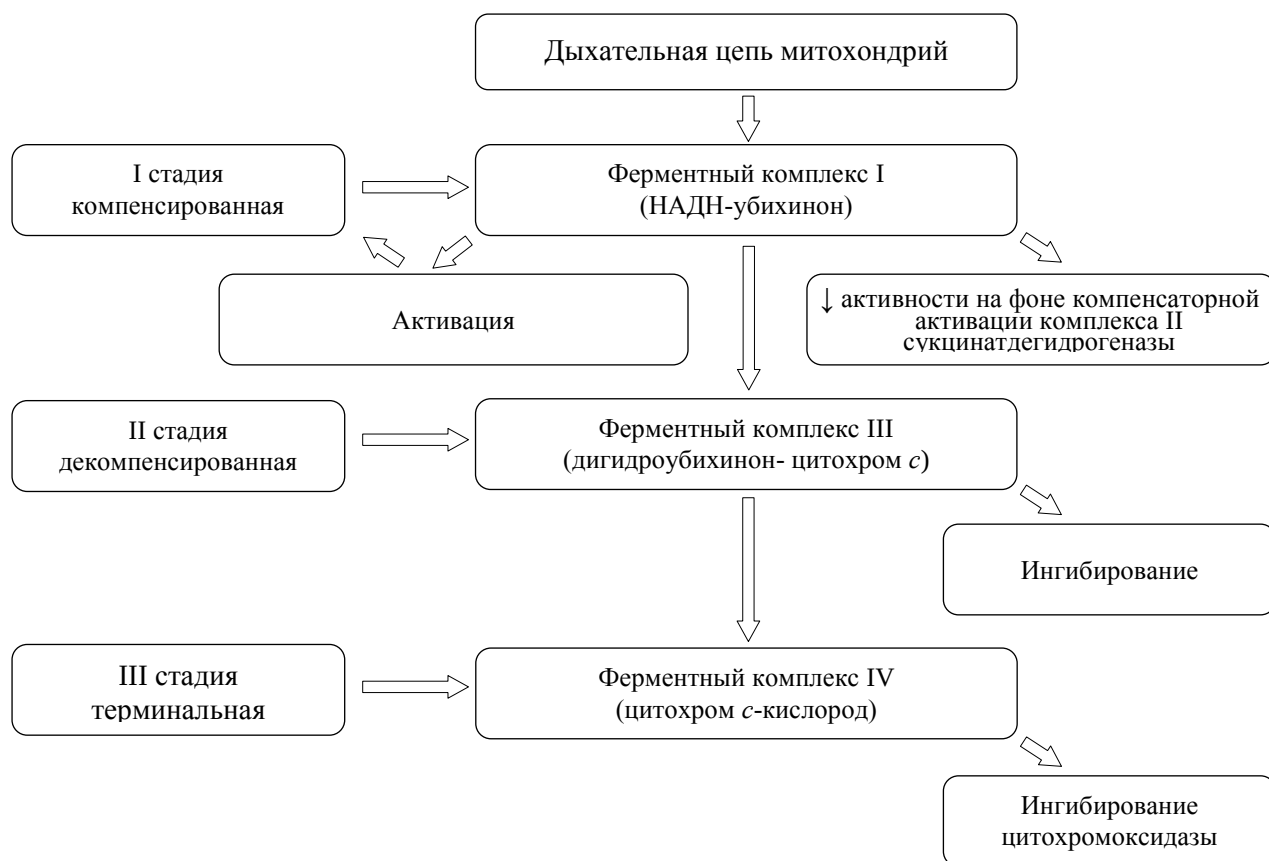


Рисунок 1 – Стадии развития биоэнергетической гипоксии [52].

Все перечисленные события инициируют процесс гипоксического некролиза, в реализации которого важнейшую роль играет нарушение гомеостаза ионов кальция. Катионы кальция, в норме выполняющие функции вторичных мессенджеров в реализации множества биологических эффектов, в избытке накапливаясь в цитозоле, становятся токсичны [216].

Вначале увеличение внутриклеточной концентрации кальция связано с нарушением работы АТФ-зависимых ионно-обменных механизмов наружной клеточной мембраны. По мере углубления гипоксии Ca^{2+} начинает поступать в цитозоль во все возрастающих количествах не только через наружные входные

кальциевые каналы, но и из внутриклеточных пулов (митохондрии, кальцисомы). Кроме того, входной поток Ca^{2+} увеличивается через поврежденные чрезмерной активацией ПОЛ клеточные мембраны [15; 345]. Избыток кальция активирует фосфолипазы клеточных мембран, вызывает освобождение арахидоновой кислоты и образование эйкозаноидов и лейкотриенов, что вносит свой вклад в формирование зон перифокального воспаления в очагах клеточного некробиоза и проявлений органной дисфункции. В этих условиях активируются нейтральные протеазы и каскадные протеолитические системы (гранзим В), запуская цитоплазматический протеолиз [49].

В терминальной необратимой стадии повреждения клеток митохондрии набухают вследствие повышения проницаемости митохондриальной мембраны, митохондриальные Са-зависимые ферменты инактивируются, митохондрии перестают быть акцепторами кислорода и субстратов клеточного дыхания, и клеточное дыхание ингибируется [248]. Прогрессирующий внутриклеточный ацидоз вызывает денатурацию белков и формирование апоптотических телец [351]. Нарушается утилизация жирных кислот митохондриями, и накапливаются эндогенные мыла, обладающие мощным детергентным эффектом, приводящим к растворению липидных мембран (этот механизм особенно важен для миокардиоцитов) [416].

Важнейшую роль в формировании митохондриальной дисфункции в условиях оксидативного стресса [376] играет белок p66shc. Этот протеин окисляет цитохром *c* электрон-транспортной цепи с образованием пероксида, что вызывает образование пор большого размера в мембране митохондрий, нарушая ее структуру, высвобождая цитохром *c* и запуская апоптоз [369; 382]. Выход лизосомальных гидролаз и других реакционно-способных метаболитов из соответствующих клеточных компартментов завершает процесс гипоксического некробиоза, за которым следует аутолиз [49].

Время, в течение которого ткань может переносить ишемию, тканеспецифично. По чувствительности к гипоксии жизненно важные органы ранжируются следующим образом: мозг – сердце – почки – печень [375]. В печени и почках

морфологические изменения и расстройства функции обнаруживаются через 20-30 мин после начала гипоксии. В кардиомиоцитах при снижении pO_2 до 2-6 мм рт. ст. снижается скорость дыхания митохондрий и развивается фибрилляция сердца [52].

Мозг нуждается в непрерывной доставке кислорода и глюкозы, так как его общие энергетические запасы, включая гликоген, обеспечивают поддержание нормальной потребности в энергии при полном прекращении поступления питательных субстратов в течение примерно 80 секунд [375]. Мозговая ткань имеет высокую скорость окислительной метаболической активности. Образование АТФ в головном мозге практически полностью происходит за счет окислительного фосфорилирования глюкозы в митохондриях и только 1-5% путем гликолиза в цитозоле [243]. Составляя всего 2% от массы тела, мозг потребляет приблизительно 20-30% от вдыхаемого кислорода. Высокая концентрация полиненасыщенных жирных кислот в мембранах клеток, наличие ионов металлов переменной валентности (железа), малая мощность антиоксидантных ферментов (каталаза, глутатиопероксидаза) делает мозг идеальной мишенью для действия активных форм кислорода (АФК) и активации перекисного окисления липидов [46; 402]. В мембранах клеток коры головного мозга при окислительном стрессе обнаруживается более высокая продукция ТБК-реагирующих продуктов (чем в клетках сердца или почек), прямо коррелирующая со скоростью ингибирования Na^+-K^+ -АТФазы [375]. Накопление малонового диальдегида при одинаковых условиях в гомогенатах мозга крыс в 20 раз выше, чем в гомогенатах печени [19]. Полное прекращение оксигенации коры мозга уже через 2-3 минуты, а продолговатого мозга через 8-12 мин приводит к необратимым изменениям [52], связанным с высвобождением эксайтотоксичных доз глутамата, который в норме выполняет сигнальную функцию [356]. Существует патогенетическая связь между патогенным действием свободных радикалов и эксайтотоксичностью [71].

Анализ причин некроза клеток мозга при ишемии и гипоксии позволил Иванову К.П. (2010) [55] со ссылкой на [304] выделить основные: 1) внутриклеточный ацидоз; 2) накопление внутри клеток ионов Na^+ ; 3) вхождение в

клетку и накопление в цитозоле ионов Ca^{2+} ; 4) активация каспаз; 5) снижение содержания АТФ; 6) повышение содержания глутамата в клетке; 7) повышение образования АФК; 8) генерация NO; 9) повышение содержания свободных жирных кислот в цитозоле. Причем первые 6 названных причин являются прямым следствием одного основного события – резкого снижения или отсутствия в цитозоле АТФ, т.е. энергетического голодания клеток. Остальные причины, по мнению исследователя этой проблемы [55], сами по себе не являются смертельными: критическое повышение АФК при отсутствии в клетке кислорода в условиях экстремальной гипоксии, а тем более аноксии, вряд ли возможно, а генерация NO и повышение содержания свободных жирных кислот в цитозоле не дают достаточных оснований для предположений о смертельной опасности этих факторов для клетки.

Таким образом, основной причиной гибели клеток при кислородной недостаточности является развитие биоэнергетической гипоксии с реализацией неспецифического механизма гипоксического некробиоза.

Другим возможным механизмом гибели клеток при действии ишемии-реперфузии является свободнорадикальный некробиоз.

Главным регулятором уровня АФК в тканях является содержание кислорода [102]. При гипоксии содержание O_2 и генерация АФК в митохондриях значительно снижается [55]. Однако согласно феномену «кислородного парадокса», описанному Grandpierre и Franck (1952), при снижении концентрации кислорода ниже определенных величин продукция АФК не снижается, а увеличивается. Полагают, что когда уровень кислорода в районе митохондрий становится ниже сродства цитохромоксидазы к O_2 , вся утилизация кислорода сводится к образованию АФК, так как все дыхательные переносчики, ответственные за их генерацию, оказываются перевосстановленными [102]. Существует также предположение, что малые концентрации АФК могут вызывать в митохондриях окислительный взрыв по неизвестной на сегодняшний день схеме усиления сигнала [377] – так называемое ROS-induced ROS release (АФК-индуцированное высвобождение АФК). Есть убедительные данные в пользу того, что ишемия-реперфузия сопровождается взры-

вом продукции АФК именно по указанному механизму, однако этот вопрос требует дальнейшего изучения [377].

Длительное избыточное образование АФК в результате нарушения свободнорадикального окисления может вызвать повреждения, называемые окислительным или оксидативным стрессом. Окислительные повреждения играют важную роль во многих патологических процессах [30; 42; 118, 120; 125; 167, 184; 393]. Избыточная продукция АФК дефектными или некорректно функционирующими ферментами дыхательной цепи [67] активирует ФАД-зависимый участок митохондрий (быстрый метаболический кластер), увеличивает энергопотери клетки, что снижает ее адаптивные возможности [49].

Однако и недостаток АФК небезразличен для клеток. Наличие в физиологических условиях некоторой небольшой концентрации АФК является необходимым условием, реализующим эффективную внутри- и внеклеточную сигнализацию и обеспечивающим нормальное течение метаболических процессов [376]. Фоновый уровень АФК даже в нормальных условиях весьма тканеспецифичен и прямо коррелирует с пролиферативной и метаболической активностью и потреблением кислорода [419].

Таким образом, одни и те же молекулы могут участвовать не только в повреждении клеток и тканей, но и в защите от вредных воздействий, во внутриклеточной сигнализации и модуляции клеточной функции, включая процесс апоптоза [196; 376], в регуляции множества физиологических процессов.

Активация образования свободных радикалов неизбежно приводит к усилению перекисного окисления липидов и повреждению мембран [30; 42; 125]. Реакция цепного окисления липидов, центральным звеном которой является образование свободных липидных радикалов, играет исключительно важную роль в клеточной патологии [112].

Основным субстратом для перекисного окисления липидов являются полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) [15; 438]. Скорость ПОЛ возрастает по мере увеличения в жирных кислотах числа ненасыщенных связей. Наиболее уязвимыми и, соответственно, наиболее вовлеченными в реакции липопероксидации

оказываются мембранные фосфолипиды, что объясняется наличием в их составе ПНЖК и непрочностью связи аллильных атомов водорода с метиленовыми группами.

Существует ряд условий, необходимых для протекания свободно-радикальных реакций [15]:

- наличие субстрата окисления (RH). Основным субстратом ПОЛ в мембранах являются омега-6-ненасыщенные жирные кислоты, содержание которых резко превалирует над другими ПНЖК;
- наличие в среде молекулярного кислорода;
- образование АФК;
- наличие металлов переменной валентности (Me^n , главным образом Fe^{2+}) и восстановителей этих металлов (НАДФН и др.);
- ферментные и неферментные ингибиторы ПОЛ, восстанавливающие более активные формы кислорода до менее активных, а также осуществляющие обрыв цепей.

В этом аспекте представляет интерес вопрос о достаточности молекулярного кислорода для инициации и развития ПОЛ в условиях ишемии. По данным Биленко М.В. [15], даже при полной ишемии в тканях достаточно долго сохраняется остаточный уровень кислорода в пределах 2-5 мм рт. ст., при этом скорость свободнорадикальной реакции (по интенсивности хемилюминесценции) не зависит от концентрации O_2 и практически не меняется вплоть до полного исчезновения его из системы.

В процессе перекисного окисления липидов образуется широкий спектр продуктов окисления, обладающих токсическим действием. К основным первичным продуктам ПОЛ относят липидные гидроперекиси. В отличие от свободных радикалов, обладающих высокой реакционной способностью и химически нестабильными, липидные гидроперекиси относительно более стабильны, особенно в отсутствие ионов металлов переменной валентности. Исследование гидроперекисей липидов в сыворотке крови может быть использовано для прогнозирования течения и оценки тяжести окислительного стресса в тканях [195].

Гидроперекиси липидов могут реагировать с пероксинитритом или хлорноватистой кислотой с образованием синглетного молекулярного кислорода [195]. Синглетный кислород может вступать в реакцию с аминокислотами и белками, вызывая множество патологических эффектов, включая окисление боковых цепей, фрагментацию, димеризацию и агрегацию, конформационные изменения, ферментативную инактивацию, изменяя структуру и функции белков [394].

Значительный вклад в развитие расстройств, возникающих при активации ПОЛ, вносит арахидоновая кислота, из которой под действием циклооксигеназы образуются эйкозаноиды, а под влиянием 5-липооксигеназы – лейкотриены и эйкозатетраеновые кислоты [311]. Первые являются медиаторами воспаления, обеспечивая процессы альтерации, вторые – мощными хемоаттрактантами, привлекающими в зону повреждения нейтрофилы. Еще одним продуктом ферментативного расщепления арахидоновой кислоты является фактор агрегации тромбоцитов. Все выше сказанное иллюстрирует взаимосвязь процессов перекисного окисления липидов клеточных мембран и воспаления [49].

Арахидоновая кислота может быть расщеплена свободнорадикальным неферментативным путем с образованием вторичных продуктов перекисного окисления: малонового диальдегида (МДА), 4-гидрокси-2-ноненаля (HNE), акролеина, изопростанов и других конечных продуктов перекисного окисления липидов (более стабильных и токсичных, чем гидропероксиды). МДА считается наиболее мутагенным продуктом перекисного окисления липидов, в то время как HNE является наиболее токсичным, а акролеин наиболее реакционноспособным [244]. Было показано, что HNE и акролеин реализуют свое биологическое действие, изменяя события клеточной сигнализации, модифицируя и повреждая белки и ДНК, вызывая повреждение и гибель клетки. В отличие от свободных радикалов, которые атакуют биомолекулы, расположенные менее чем в нескольких нанометрах от места их генерации, липоперекисные альдегиды, являясь высокореактивными электрофильными молекулами, легко диффундируют в ткани и обуславливают патологические изменения в клетках далеко от места их образования [180; 268].

Чрезмерная активация ПОЛ, вызывая окислительную деградацию мембранных фосфолипидов, приводит к ограничению конформационной подвижности полипептидной цепи, нарушению структуры мембраны, изменению ее текучести и проницаемости, оказывается причиной снижения функциональной активности встроенных в мембраны ферментов, рецепторов и каналобразующих белков [195; 299; 303].

Будучи самоподдерживающейся цепной реакцией, перекисное окисление липидов усиливает эффекты свободных радикалов, приводит к образованию первичных и вторичных продуктов липопероксидации, вызывая, в конечном счете, развитие масштабных процессов некробиоза и апоптоза по свободнорадикальному механизму [129; 436].

При оксидативном стрессе повреждающему действию АФК даже в большей степени, чем фосфолипиды, подвергаются белки плазматических мембран, что вызывает их деполимеризацию и гибель клетки. Окислительная модификация белков (ОМБ) и перекисное окисление липидов в настоящее время считаются важнейшими маркерами повреждения ткани [228; 229; 252]. В результате окислительной модификации в белковой молекуле возникают карбонильные, сульфоновые, битирозиновые сшивки, повышается степень фрагментации молекул [92], а битирозин предложено считать специфическим маркером окислительного стресса в ЦНС.

При увеличении концентрации активных соединений, содержащих альдегидные и карбонильные группы, окислительный стресс может сочетаться с карбонильным. К таким соединениям относятся глиоксаль, метилглиоксаль, 3-гидроксиглюкозон, представляющие собой продукты окисления углеводов. Активными карбонильными соединениями являются также малоновый диальдегид и 4-гидроксиноненаль, образующиеся при перекисном окислении липидов.

Показано, что все липоперекисные альдегиды с готовностью реагируют с нуклеофилами, в том числе с тиолами и аминами, входящими в состав клеточных белков и нуклеиновых кислот, что ведет к накоплению химически измененных макромолекул и, в конечном счете, к разрушению клеток [285]. В частности, они

участвуют в реакциях внутри- и межмолекулярного сшивания белка/ДНК, которые могут вызывать их конформационную модификацию и необратимые изменения химических свойств биомолекул [15; 349; 433]. Конъюгаты липоперекисных альдегидов с нуклеиновыми кислотами и белками были обнаружены при различных патологических состояниях, например, в апоптотических и некротических клетках ткани опухоли головного мозга [238].

В результате неферментативной реакции SH-групп мембранных белков со свободными радикалами липидов образуются сульфгидрильные радикалы, которые затем взаимодействуют с образованием дисульфидов либо окисляются с образованием производных сульфоновой кислоты. Окисление SH-групп мембранных белков играет ведущую роль в нарушении функции цитохрома P-450, приводит к появлению дефектов в липидном бислое мембран клеток и митохондрий, значительно увеличивая их ионную проницаемость [15]. Нарушается функция ион-транспортных ферментов, в активный центр которых входят тиоловые группы, в частности, Ca^{2+} - и Na^+/K^+ -АТФ-азы [93; 293; 383]. В результате нарастания внутриклеточной концентрации ионов увеличивается осмотическое давление внутри клеток и митохондрий, происходит их набухание, разобщение окисления и фосфорилирования, усиливается энергодефицит.

Карбонильные продукты образуются также при свободнорадикальном окислении белков [334]. Вышеперечисленные соединения модифицируют аминокислотные остатки белков и азотистые основания нуклеиновых кислот, меняя свойства этих важнейших биомолекул.

Карбонильный стресс в настоящее время считается наиболее тяжелым проявлением оксидативного стресса, приводящим к инициации воспаления, аутоиммунных повреждений, гибели клетки (апоптоз или некроз) [370]. Поэтому оценка соотношения между интенсивностью липопероксидации и окислительной модификации белков необходима для комплексной оценки процессов свободнорадикального окисления и характеристики проявлений окислительного стресса.

Перепроизводство митохондриальных АФК ферментными ансамблями I и III и моноаминоксидазами и нарушение их нейтрализации в митохондриях при

ишемии-реперфузии, действии некоторых ксенобиотиков, системном воспалительном ответе, дефиците антиоксидантов, запускают порочный круг, ведущий к апоптозу поврежденных клеток [1; 62; 191; 200; 222].

Поскольку митохондрии являются не только основными производителями АФК, но и их главной мишенью, есть все основания полагать, что в конечном итоге клеточную гибель при апоптозе можно рассматривать как результат повреждения энергообразования, так как АФК нарушают физиологические функции электрон-транспортных цепей митохондрий и биоэнергетический статус клетки [55]. Кроме того, гибель клеток при апоптозе может быть связана с энергодифицитом косвенно, через другие специфические механизмы. В частности, энергозависимое нарушение выкачивания ионов кальция против градиента их концентрации приводит к накоплению их в цитозоле, что влечет за собой нарастающий внутриклеточный ацидоз и протеолиз цитоплазматических белков с их сшивкой с последующим формированием апоптотических телец [351]. В конечном счете апоптоз из-за избытка Ca^{2+} оказывается результатом недостатка энергии [55].

Возобновление доставки кислорода к гипоксической ткани может стать фатальным для организма вследствие развития прогрессирующего эндотоксикоза и системной воспалительной реакции [64]. Степень эндогенной интоксикации определяет активность свободнорадикальных реакций [62; 128; 129; 175]. Избыточная активация фагоцитирующих клеток и тромбоцитов на фоне срыва антиоксидантной защиты вызывает усиление образования АФК, окислительный взрыв [377] и гибель клеток путем свободнорадикального некробиоза. На органном уровне это проявляется нарастающей дисфункцией, на организменном – формированием синдрома полиорганной недостаточности [62].

В формировании синдрома полиорганной недостаточности, важнейшей составляющей которого является системный воспалительный ответ [62], значительную роль играют цитокины. Установлено, что эти молекулы межклеточного взаимодействия могут выступать также в роли индукторов апоптоза [191; 426]. В частности, ИЛ-12 инициирует апоптоз Nk-клеток (натуральных киллеров), ИЛ-4 и ИЛ-10 – моноцитов, а основными индукторами апоптоза лимфоцитов являются

TNF- α и глюкокортикоиды [157; 167; 426]. Установлено, что один и тот же цитокин в одних клетках может выступать в роли индуктора апоптоза, в других – ингибитора. Например, в воспалительных очагах с нейтрофильной и мононуклеарной инфильтрацией в печени имеет место задержка апоптоза нейтрофилов и ускорение апоптоза мононуклеаров под влиянием ИЛ-8 [157]. Это позволяет нейтрофилам длительно участвовать в альтеративных процессах и пролонгировать воспалительную реакцию.

1.2. Функционирование гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы при действии экстремальных факторов

Гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система (ГГАС) является основной эндокринной системой, регулирующей гомеостаз, обеспечивающей мобилизацию защитных сил организма при действии экстремальных факторов и формирование адаптивных реакций [139]. Отклонения в функциональном состоянии нейроэндокринной системы, зависящие от скорости, вида и интенсивности стрессорного воздействия, а также дисрегуляция механизмов обратной связи, вызывают развитие дезадаптивных состояний, приводящих, в ряде случаев, к гибели организма [138].

По R.M. Sapolsky [389] в первые же секунды после действия стрессорного агента активируются быстрые регуляторные связи, последовательно приводящие к мощному выбросу катехоламинов симпатической нервной системой, высвобождению в кровоток кортикотропин-рилизинг-гормона с последующим в течение 10 сек повышением секреции кортикотропина, уменьшением секреции гонадолиберина и гонадотропного гормона гипофиза. Эти реакции могут быть дополнены увеличением образования пролактина, соматотропина, а также глюкагона (у приматов), а в случае кровопотери массивной секрецией вазопрессина из задней доли гипофиза и ренина почками [389]. Указанные быстрые эффекты, сопряженные с интенсивным энергетическим обменом и расходом катехоламинов, реали-

зуются при участии вторичных мессенджеров, запускающих биохимические каскады.

В последующие несколько минут модальность реакций меняется: начинают превалировать гормональные влияния – включается так называемый медленный компонент биоуправления [66] или медленные регуляторные связи. Отражением этого является стимуляция секреции глюкокортикостероидов (ГКС) надпочечниками и снижение секреции половых гормонов. Для реализации геномных эффектов стероидных гормонов требуется больше времени: приблизительно час для ГКС и несколько часов для половых гормонов [389].

Указанные изменения позволяют в период от нескольких секунд до нескольких минут реализовать основные физиологические реакции на стресс: мобилизовать накопленную энергию и переключить ее на необходимые нужды, а также ограничить последующее накопление энергии, усилить глюконеогенез; увеличить доставку биосубстратов к местам назначения через активацию деятельности сердечно-сосудистой системы; стимулировать иммунитет; снизить аппетит и пищевую мотивацию; ингибировать репродуктивную функцию и половое поведение; активировать когнитивную функцию, увеличить скорость церебрального кровотока и использование локальных запасов глюкозы. Длительность реакций обусловлена стресс-индуцированными эффектами ГКС на ткани-мишени [389].

Таким образом, для эндокринной системы справедлив принцип разной инерционности компонентов единого процесса регуляции как важное условие поддержания жизнеспособности, развиваемый в работах Козлова В.К. и Ярилова С.В. [66]. Первично более быстрые, но менее точные гипоталамические связи в процессе эволюции систем биологического управления функциями жизнедеятельности надстраиваются относительно медленными, но более точными гипофизарными связями. Базовый принцип физиологической инерции [66] дополняется принципом функционального антагонизма, поскольку активизация «молодых» связей тормозит активность связей «древних» и наоборот.

К настоящему времени подробно изучены метаболические эффекты глюкокортикоидов, являющихся индукторами стресс-реакции. Исключительным по

важности является их действие на концентрацию глюкозы в крови, которое осуществляется с помощью ряда механизмов. В присутствии определенных дострессорных концентраций ГКС происходит стимуляция гликогенолиза и глюконеогенеза под действием глюкагона и катехоламинов, что представляет собой непосредственную реакцию на стресс; стимуляция глюконеогенеза в печени и отложение гликогена; ингибирование утилизации глюкозы [231; 388].

Таким образом, ГКС оказывают перmissive метаболическое действие на стресс, синергичное с катехоламинами, соматотропным гормоном и глюкагоном, приводящее к увеличению концентрации глюкозы в циркулирующей крови в результате стимуляции гликогенолиза и глюконеогенеза. Адреналин и глюкагон действуют быстро, в то время как ГКС медленно, пролонгируя в течение нескольких часов действие адреналина или глюкагона [389]. Эти эффекты в совокупности с торможением синтеза белка из аминокислот и усилением его протеолиза, прежде всего в элементах соединительной ткани, мобилизацией жира из депо направлены на улучшение энергообеспечения тканей при стрессовом воздействии [77; 231].

Кроме того, ГКС участвуют в регуляции пищевого поведения, активности сердечно-сосудистой системы, обмена воды и электролитов; обладают иммуносупрессивным действием, потенцируют защитную реакцию иммунной системы и т.д. [48; 77].

Любая стрессовая реакция организма, независимо от причины ее вызвавшей, обязательно сопровождается нарушениями свободнорадикального окисления (окислительный стресс) и усилением продукции АФК, присутствие которых в физиологических концентрациях в качестве вторичных мессенджеров является необходимым условием нормального течения метаболических процессов, в том числе свободнорадикальных [376]. В частности, АФК играют важную роль в процессах жизнедеятельности нейронов – от простой модуляции функции различных рецепторов к деградации митохондрий и запуску сложных путей клеточной смерти.

В регуляции процессов СРО наряду с АФК принимают участие и глюкокортикоиды. Например, *in vitro*, глюкокортикоиды влияют на генерацию супероксида с помощью повышающей регуляции NADPH-оксидазы [339]. Показано, что ГКС *in vivo* снижают активность глутатионпероксидазы в гиппокампе [239; 312; 360] и влияют на экспрессию других антиоксидантных ферментов в мозге [250], что может привести к окислительному стрессу и ряду неврологических расстройств. Глюкокортикоиды участвуют в воспалительной сигнализации, влияя на внутриклеточную продукцию АФК [221], в регуляции ряда факторов транскрипции и сигнальных путей: HIF-1 α (гипоксия-индуцированный фактор транскрипции -1) [242], NF- κ B, JNK/c-Jun сигнализации в головном мозге крыс [213].

Глюкокортикостероиды, секретируемые во время стресса, могут оказывать неблагоприятное воздействие на нервную систему и особенно на кору головного мозга [37] и гиппокамп, который является основной мишенью [236; 313]. Показано, что избыток ГКС может приводить к атрофии дендритов, подавлять нейрогенез, и, таким образом, усиливать нейротоксичность [213; 378].

ГКС снижают способность нейронов гиппокампа переносить экстремальные воздействия, в том числе тяжелую гипоксию/ишемию, гипогликемию, действие антиметаболитов, бета-амилоида, гликопротеида gp120, входящего в состав оболочки ВИЧ [388]. В основе этих изменений лежат накопление глутамата и нарушения мобилизации кальция, возникающие под действием ГКС и играющие важнейшую роль в некробиотической гибели нейронов. Эти патологические эффекты могут возникать как в результате непосредственного действия глюкокортикостероидов на субъединицы кальциевых каналов или кальциевой-АТФазы, так и вторичного нарушения энергетики гиппокампа [360].

Влияя на обмен кальция и глутамата, ГКС усугубляют дегенеративные изменения: усиливают протеолиз цитоскелета и аномалии микротрубочек, способствуют накоплению АФК, что представляет особый интерес, поскольку известна их роль в процессах некробиоза и некроза [378; 388].

Кортикостероиды обеспечивают быструю и отсроченную отрицательную обратную связь для ГГАС. Быстрая обратная связь реализуется через негеномную

активацию мембранных кортикостероидных минерало- и глюкокортикоидных рецепторов – ММР и МГР [405], существование которых на сегодняшний день считается доказанным [315; 318; 324]. Последние данные свидетельствуют о том, что ММР и МГР находятся в постсинаптической плотности, дендритных шипиках, а также пресинаптических концевых участках [219; 306; 307]. Несмотря на то, что особое внимание уделяется роли ММР и МГР в нейронах, следует отметить, что мембранная форма рецептора характерна не только для мозга, она встречается во многих клетках, например, иммунной системе [205].

Кортизол имеет уменьшенное сродство к ММР по сравнению с геномным МР: требуются от 10 до 20 раз более высокие его концентрации для активации гиппокампальной сигнализации через мембраносвязанные МР [332]. В этом контексте ММР может обрабатывать быстрые эффекты увеличенных уровней кортикостероидных импульсов, вызванных стрессом, и влиять на оценку острой стрессовой ситуации в начальной фазе [288]. В противоположность этому, как полагают, геномный МР имеет более регуляторную функцию и определяет чувствительность ГГАС и порог напряжения реактивности.

Предполагается, что мембраносвязанный глюкокортикоидный рецептор быстро регулирует синаптическую передачу с помощью нескольких механизмов, в том числе ГР-регулирования АМРА (ионотропного рецептора глутамата) [215] и пре- и постсинаптической функции. Мембраносвязанный минералокортикоидный рецептор регулирует пресинаптическое высвобождение и взаимодействие АМРА с мембранным рецептором [271]. ММР и МГР могут вызывать циркадные и стресс-индуцированные изменения в постсинаптической плотности и влиять на эндогенное регулирование нейронных сетей, участвующих в процессах памяти, обучения и других ключевых неврологических функциях [214; 218].

Отстроченная отрицательная обратная связь реализуется через геномные эффекты кортикостероидов путем активации глюкокортикоидных (ГР) и минералокортикоидных рецепторов (МР) [359; 424]. Паравентрикулярные ядра гипоталамуса являются основными центрами нейроэндокринной регуляции ГГАС [353]. Однако регуляция активности ГГАС не ограничивается одним контуром – суще-

ствуется еще один контур, экстрагипоталамической регуляции, осуществляющий тонкую настройку эндокринного ответа на стрессор. В этот контур входят высшие отделы кортиколибериновой системы (неокортекс, септо-гиппокампальная область, миндалевидное тело), оказывающие на гипоталамус нисходящие влияния [353].

Центральную роль в экстрагипоталамической регуляции играет гиппокамп, в котором плотность ГР и МР очень велика, и который замыкает длинную петлю глюкокортикоидной обратной связи: глюкокортикоид – гипофиз – гипоталамус – гиппокамп. Влияние гиппокампа на ГГАС преимущественно ингибиторное. Нисходящая регуляция кортикостероидных рецепторов гиппокампа снижает чувствительность ГГАС к сигналам глюкокортикоидной обратной связи, вследствие чего уровень циркулирующего гормона повышается. Однако это не означает, что повреждение гиппокампа непременно приведет к активации ГГАС [286].

Глюкокортикоидные (NR3C1 – nuclear receptor subfamily 3, group C, class 1) и минералокортикоидные (NR3C2 – nuclear receptor subfamily 3, group C, class 2) рецепторы действуют взаимодополняющим образом, регулируя активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси [225; 323]. Активация ГР и МР запускает сигнальные пути с участием каскадов клеточных, иммунологических и физических изменений через геномные механизмы регуляции транскрипции [288]. Аффинитет МР к кортикостероидам в 10 раз выше, чем у ГР [224; 324]. Это высокое сродство приводит к высокой занятости МР даже в условиях покоя, что обеспечивает поддержание низких базальных уровней кортикостероидных гормонов через отрицательную обратную связь [409]. Напротив, полная занятость ГР достигается только при пиковых концентрациях кортикостерона в крови, например, после пробуждения (циркадная пульсация уровня гормона) или в результате воздействия чрезвычайного раздражителя. Таким образом, экспрессия ГР является важным индикатором стрессовой реакции [224; 226; 338; 344].

Что касается соотношения между ГР и МР, оба рецептора играют комплементарные роли в регуляции функциональных возможностей ГГАС [227]. В отличие от МР, геномная активация ГР облегчает восстановление и адаптацию и нор-

мализует функционирование мозга через несколько часов после воздействия стресса, когда уровни кортикостероидов вернулись к исходным значениям благодаря отрицательной обратной связи [289]. Высокое сродство кортизола к МР дает основание полагать, что минералокортикоидные рецепторы, в основном, способствуют функциональности ГР путем связывания кортизола [409].

Наибольшее внимание до последнего времени минералокортикоидные и глюкокортикоидные рецепторы привлекали в качестве геномных цитоплазматических ядерных факторов транскрипции, уровень экспрессии которых регулируется несколькими транскрипционными факторами и регуляторами сплайсинга [301]. Существуют наблюдения, показывающие, что важную роль в модуляции транскрипционной деятельности лигандов ГР и МР могут играть такие сигналы как деградация мРНК, специфическая активация транскрипционных факторов и регуляция экспрессии микроРНК [319; 389; 414].

В отсутствие гормона ГР секвестрируется в цитоплазме клетки в составе многомерного шаперонного комплекса, состоящего из белков теплового шока HSP90, HSP70, HSP90-связывающего белка p23, иммуофилинов и других факторов, предотвращающего деградацию рецептора и обеспечивающего такую его конформацию, которая обладает высоким аффинитетом к ГКС [96; 428]. После взаимодействия с гормоном мультибелковый комплекс диссоциирует, а рецептор фосфорилируется, и гормон-рецепторный комплекс транслоцируется в ядро. Там он действует либо в качестве гомодимерного фактора транскрипции, который связывается с элементами глюкокортикоидной регуляции (GREs) в промоторных регионах глюкокортикоид-индуцируемых генов или в качестве мономерного белка, взаимодействующего с другими факторами транскрипции, такими как NF-κB и AP-1 [96; 428].

Время полуперехода гормон-рецепторного комплекса в ядро для ГР весьма коротко и составляет всего 3-5 мин, в то время как выход белка из ядра – несколько часов [96; 429]. Предполагается, что такое длительное присутствие ГР в ядре связано с тем, что гормон-рецепторный комплекс может осуществлять несколько серий «связывание с GREs/диссоциация» длительностью несколько десятков се-

кунд. Такой внутриядерный оборот ГР: связывание с GREs – диссоциация гормон-рецепторного комплекса – связывание свободного ГР с освободившимися шаперонами и образование нового мультибелкового комплекса, способного связывать гормон – связывание гормона и образование гормон-рецепторного комплекса – связывание с GREs и т.д. – получил название шаперонового цикла [96; 429]. Элиминация ГР происходит вследствие их протеосомной деградации непосредственно в ядре [115].

Минералокортикоидный рецептор после связывания с кортикостероидом в составе комплекса «МР-лиганд» транслицируется в ядро, влияя на транскрипцию различных генов, включая факторы роста, молекулы клеточной адгезии и нейропептиды [314; 374]. Время полуперехода гормон-рецепторного комплекса в ядро для МР составляет 45 мин. Благодаря высокому сродству к кортикостероидам, большинство геномных МР остаются занятыми в течение суточного цикла ГГАС, в отличие от ГР, которые заняты на 10% от их общего количества [227]. В результате именно геномные МР способны устанавливать порог активации оси гипоталамус-гипофиз-надпочечники.

Экспрессия МР в головном мозге в основном ограничивается нейронами в лимбических областях, таких как гиппокамп и миндалевидное тело. Это контрастирует с ГР, который экспрессируется по всему мозгу [224]. Фермент 11β -HSD типа 1 экспрессируется по всему мозгу, где он отвечает за регенерацию активного кортизола из неактивного 11-кетопроизводного альдостерона [435]. Уровни альдостерона в головном мозге являются очень низкими (более чем в 100 раз) из-за отсутствия фермента альдостеронсинтазы [249]. Таким образом, кортизол является основным лигандом для МР в мозге, особенно в лимбической области.

В почках альдостерон является основным эндогенным лигандом с высоким сродством к МР за счет активности фермента 11β -HSD типа 2, который катаболизирует кортизол в неактивный метаболит кортизон [415].

МР экспрессируется в различных тканях, включая почки, жировую и эпителиальную ткани, эндотелий и макрофаги. Значительная экспрессия МР была описана в жировой ткани, с весомой ролью в ее развитии, обмене веществ, а также в

производстве провоспалительных медиаторов [420]. Экспрессия МР была обнаружена в макрофагах, что является важным фактором, способствующим продолжению воспаления после инфаркта миокарда [232].

Экспрессия МР в мозге имеет прямые защитные эффекты на нейронном уровне. Избыточная МР экспрессия снижает гибель нейронов после транзиторной церебральной глобальной ишемии [251]. Этот эффект отменяется антагонистами МР [329]. Точно так же, в клеточных линиях при сверхэкспрессии МР был получен результат более высокой выживаемости нейронов, который может быть отменен при ингибировании МР [331]. У трансгенных мышей, лишенных МР, обнаруживается снижение плотности гранулярных клеток в гиппокампе и значительное уменьшение гранулярных клеток нейрогенеза [308]. Кроме того, блокада спиронолактоном МР дозозависимо увеличивает гибель клеток [237]. Исследования *in vivo* и *in vitro* указывают на то, что МР имеет важное значение для поддержания целостности нейронов и способствует нейрогенезу.

Установлено, что МР и ГР по-разному влияют на экспрессию генов семейства Bcl-2. В частности, в гиппокампе крыс активация экспрессии ГР индуцирует гибель клеток путем апоптоза в результате увеличения отношения Bax/Bcl-2 в пользу проапоптотического белка Bax. Стимуляция экспрессии МР приводит к противоположному результату [166]. Возможный механизм заключается в том, что ГР повышает, а МР снижает уровни белка p53 – прямого регулятора транскрипции генов Bax и Bcl-2 [401]. Помимо этого, блокада МР спиронолактоном усиливает ГР-опосредованный апоптоз после совместного введения с дексаметазоном [237]. Таким образом, МР может также иметь антиапоптотическую и регуляторную роль в предотвращении ГР-опосредованного апоптоза.

Адаптация к гипоксической среде также связана с глюкокортикоидами. Существование перекрестных связей между глюкокортикоидами и гипоксия-зависимыми сигнальными каскадами было продемонстрировано в ряде исследований. Первые свидетельства взаимодействия между HIF-1 и ГР были предоставлены Kodama T. et al. [386], который установил, что лиганд-зависимая активация ГР усиливается экспрессией белков HIF-1 и сайтов их связывания HRE (hypoxia

responsive elements – элементов, чувствительных к гипоксии) в линии «бессмертных» клеток HeLa. Есть данные, что HIF-1 α играют защитную роль, ограничивая индуцированный гипоксией апоптоз [278; 379]. Leonard M.O. et al. [365] показал, что ГР транскрипционно активируются гипоксией в эпителиальных клетках проксимальных канальцев почек человека [234; 365; 386].

Тяжелая гипобарическая гипоксия вызывает значительное подавление экспрессии МР и гиперэкспрессию ГР в области СА1 гиппокампа – наиболее уязвимой к действию кислородной недостаточности [247]. Трехкратное гипоксическое preconditioning значительно модифицирует экспрессию рецепторов в различных образованиях гиппокампа: в области СА1 повышает экспрессию только МР, в зубчатой извилине – МР и ГР. В нейронах неокортекса отмечалось усиление иммунореактивности обоих рецепторов [136]. Помимо этого исследователи показали, что оба рецептора локализованы, в основном, в ядрах клеток и функционируют как факторы транскрипции, активирующие множество проадаптивных генов быстрого реагирования и образование их продуктов – NGFI-A, c-Fos, HIF-1 α , CREB, NF- κ B [27; 29]. По мнению авторов, именно кооперативная активация и экспрессия белковых продуктов этих генов вызывает индукцию защитных механизмов нейронов, подвергнутых тяжелой гипоксии.

Исследования у грызунов показывают, что существующая связь между МР экспрессией и стресс-реактивностью является двунаправленной в том смысле, что стрессовые воздействия могут также влиять на экспрессию МР. Экспрессия МР отличается высокой динамичностью, которая имеет важные последствия для контроля нейроэндокринной системы при действии чрезвычайных раздражителей.

Таким образом, МР и ГР функционируют взаимодополняющим образом, и для адекватной адаптации МР столь же важны, как ГР. Как видим, имеются убедительные доказательства того, что ГР и МР непосредственно влияют на базальную и стресс-индуцированную активности ГГАС. Увеличение функциональности МР способствует более адаптивному ответу на стресс и повышенной способности справляться со стрессорами. В противоположность этому, снижение функцио-

нальности МР может привести к неадекватным реакциям на стресс и, следовательно, повышению уязвимости индивида.

1.3. Механизмы резистентности к гипоксии

Кислород жизненно необходим для большинства форм жизни на Земле. Млекопитающие особенно чувствительны к гипоксии, вызывающей серьезные нарушения или даже смерть. Не все позвоночные, однако, подвержены одинаковому риску повреждения тканей в результате воздействия периодов гипоксии и аноксии. Существуют виды животных, способных выдерживать полное кислородное голодание в течение длительного времени даже при комнатной температуре [284]. Высокая видовая толерантность этих животных к гипоксии обеспечивается многочисленными приспособительными механизмами, важнейшими из которых являются:

1. Метаболическая депрессия. Важнейшая стратегия адаптации толерантных к гипоксии животных заключается во входе в состояние глубокого обратимого гипометаболизма, что позволяет свести к минимуму энергетические потребности и, следовательно, выживать длительное время с использованием энергии АТФ, сгенерированной только путем анаэробного гликолиза. Вход в гипометаболизм не является строго специфическим для гипоксии феноменом, это общая стратегия выживания, наблюдаемая при гибернации, оцепенении, спячке, анаэробии и ангидробии [143; 400]. Существенным дополнительным фактором толерантности к гипоксии у этих животных является переохлаждение [274]. Однако какую роль, помимо метаболической депрессии, играет переохлаждение в механизмах устойчивости к гипоксии еще не вполне понятно. Понимание механизмов гипометаболизма имеет принципиально важное значение для медицины, в частности, для трансплантологии.

2. Видоспецифичные подготовительные приспособления, такие как высокие уровни нейроглобина, атипичное распределение нейроглобина у ныряющих млекопитающих [341; 342].

3. Защита от эксайтотоксичного повреждения [203; 274; 355; 363; 444]. В мозге толерантных к гипоксии черепах, например, очень высока плотность δ -опиоидных рецепторов [356], повышающих устойчивость к глутамату и гипоксии [440]. Ток ионов через глутаматэргические рецепторы может снижаться за счет активации митохондриальных АТФ-зависимых K^+ -каналов [444], которые, в свою очередь, также уменьшают концентрацию глутамата и дофамина в начале аноксии [321; 322]. При длительной аноксии высвобождение глутамата подавляется аденозином и ГАМК [423].

4. Защита от индуцированного гипоксией апоптоза [300; 373].

5. Высокая конститутивная и индуцибельная антиоксидантная защита. Многочисленные исследования свидетельствуют о высоком конститутивном уровне активности антиоксидантных систем у толерантных животных, который обеспечивает стратегию избегания окислительного повреждения макромолекул и выгодно отличает толерантные виды животных от млекопитающих [186; 296; 299; 335; 432].

6. Высокая активность восстановительных процессов, включая нейрогенез и синаптогенез [272].

Представители толерантных видов животных являются очень удобными моделями для исследования клеточно-молекулярных механизмов устойчивости к гипоксии. Их изучение играет важную роль в понимании механизмов развития патологических состояний, связанных с недостатком кислорода и окислительным стрессом, и необходимо для разработки новых методических подходов к их коррекции. Однако только видовые особенности устойчивости к гипоксии не дают полного представления о механизмах развития патологических процессов, обусловленных недостатком кислорода, без учета индивидуальной чувствительности организма к гипоксии.

Одной из наиболее важных проблем физиологии адаптационных процессов является исследование диапазона физиолого-биохимических реакций организма в ответ на экстремальные воздействия. Еще Ганс Селье выделил два основных пути формирования устойчивости к экстремальным раздражителям. Первый путь –

синтоксический – характеризуется постепенным снижением чувствительности к действию стрессора, такая устойчивость достигается пассивно. Для второго пути характерно активное преодоление действия стрессорного раздражителя за счет реализации реакции «борьба-бегство» [139; 162; 390].

Согласно современным представлениям, адаптация к экстремальным воздействиям сводится либо к пассивному восприятию неблагоприятного воздействия, что укладывается в представление о «толерантном» характере ответной реакции, либо в реализации реакции «борьба-бегство», которая является основной составляющей резистентной стратегии адаптации [76; 159]. Две полярные стратегии отличаются друг от друга своими механизмами, а также адаптивными и дезадаптивными последствиями [16; 78; 79, 92; 108; 143]. Толерантная стратегия адаптации характеризуется ограничением потребления кислорода и повышенной устойчивостью к гипоксии (*T.s.elegans*, *C.p.marginata*, арктические суслики и пр.). Напротив, для резистентной стратегии характерно сниженное потребление кислорода и нарушение устойчивости к гипоксии.

С позиций экологической физиологии [141; 172], а также концепции адаптационных стратегий В.И. Кулинского и И.А.Ольховского [76], чувствительность к гипоксии можно рассматривать как один из интегральных показателей толерантной (т.е. гипометаболической) стратегии адаптации, а в рамках представлений Ф.З.Меерсона – как метод общей оценки функционирования стресс-лимитирующих систем [94; 174]. Реальным содержанием стадии истощения (дистресса) по Селье, как считают В.И. Кулинский и И.А. Ольховский, является целенаправленная стратегия адаптации, которая в случае своей неэффективности сменяется мобилизацией механизмов стрессорной резистентности [174].

Различия в индивидуальной чувствительности организма к гипоксии определяются его фенотипическими и генотипическими особенностями, которые проявляются в широком диапазоне параметров и сохраняются на всех уровнях организации [50; 88; 142]. В любой популяции неинбредных животных особи значительно различаются по степени устойчивости к острой гипоксии, в то время как в инбредных линиях эти отличия стерты [95]. Например, среди крыс линии Вистар

преобладают животные с низкой резистентностью к острой гипоксии, а среди крыс линии Август – высокоустойчивые [126]. Интересно, что самки и самцы как линейных, так и беспородных крыс не отличаются по устойчивости к гипоксии [53]. Исследование устойчивости к гипоксии неинбредных крыс [137] выявило следующее разделение животных: высокоустойчивые (ВУ) 40,7%, среднеустойчивые (СУ) – 26,3%, неустойчивые (НУ) 32,6%. Индивидуальные особенности реагирования на гипоксию могут сыграть весьма существенную роль в течении и исходе патологических состояний, в патогенезе которых в качестве патогенетического звена присутствует гипоксия. Тем не менее, такая неоднородность в популяции является, по-видимому, биологически целесообразной, облегчая приспособление ее к меняющимся условиям среды.

Доказано, что животным, различным по устойчивости к гипоксии, соответствуют различные функционально-метаболические характеристики [14; 50; 88; 137]. В частности, толерантность к гипоксии сопряжена с ростом активности карбоангидразы крови и ферментов липолиза, интенсивность белкового обмена при этом выше интенсивности жирового [60]. Показано также, что у высокорезистентных к гипоксии животных повышено использование пирувата в реакциях переаминирования с глутаматом, что усиливает роль гликолиза в образовании энергии, активизирует цикл Кребса и ограничивает синтез липидов [14].

В исследованиях Д.Л. Лукьяновой и соавторов установлено наличие существенных различий в активности митохондриальных ферментов дыхательной цепи у животных с разным типом устойчивости к гипоксии, выявляющееся во всех тканях [87; 88]. В наибольшей степени различия касаются функционирования митохондриального ферментного комплекса I (МФК I). Например, достоверно меньшая исходная активность в мозге НУ крыс фермента НАДН-цитохром *c*-редуктазы, входящего в этот комплекс, обуславливает более низкую окислительную эффективность НАДН-оксидазного пути. Поэтому при гипоксии у НУ животных ограничение этого пути окисления, а, следовательно, и активности всего ферментного ансамбля происходит быстрее и выражено сильнее, чем у ВУ, что имеет принципиальное значение, поскольку в начальной стадии гипоксии ком-

пенсация обеспечивается именно активацией МФК I. Истощение резерва АТФ в клетках при ишемии и гипоксии мозга коррелирует со степенью снижения активности МФК I и у НУ животных также происходит более интенсивно.

В сердечной мышце в нормальных условиях у ВУ животных активность МФК I ниже, чем МФК II (сукцинатдегидрогеназы). НУ животные, у которых преобладает НАД-зависимое окисление, изначально оказываются в невыгодном положении, т.к. лимитирование этого пути на ранней стадии гипоксии приводит к быстрому сокращению АТФ и снижению контрактильной функции миокарда [41; 87; 88].

Все вышесказанное свидетельствует о меньшей экономичности процессов окислительного фосфорилирования и большей их напряженности у низкоустойчивых к гипоксии особей, а различная устойчивость двух фенотипов животных к воздействию гипоксии генетически детерминирована и коррелирует с особенностями кинетики ферментов МФК I [88].

Работами Лукьяновой Л.Д. и соавторов [87; 88] также доказано, что указанные различия в кинетике ферментов МФК I накладывают отпечаток на функционирование основных энергозависимых систем и формирование индивидуальных особенностей метаболического статуса животных устойчивых и неустойчивых к гипоксии. Низкая резистентность к гипоксии сопряжена со сниженной умственной и физической работоспособностью, повышенной возбудимостью и истощаемостью возбудительного процесса в ЦНС. Повышенный тонус симпатического отдела вегетативной нервной системы у низкоустойчивых особей имеет следствием повышенную возбудимость дыхательного и сосудодвигательного центров с высокими базовыми показателями частоты дыхания и тенденцией к тахикардии, что в совокупности с ограниченной, по сравнению с ВУ крысами, резервной емкостью симпатoadреналовой системы при гипоксии приводит к быстрому снижению респираторной функции и декомпенсации сердечной деятельности. Значительное напряжение кислородтранспортной функции крови со сдвигом кривой диссоциации оксигемоглобина вправо у НУ особей предполагает быструю ее истощаемость при гипоксии. Стремительное развитие при кислородном голодании у

этих животных метаболического ацидоза на фоне гипергликемии и гиперлипидемии является свидетельством конститутивно низкого уровня обменных процессов [50]. Кроме того, для особей с низкой резистентностью к гипоксии характерны фоновые гиперкалиемия и гиперкальциемия, что имеет самые серьезные последствия в условиях гипоксии [88].

Все указанные различия определяют характер метаболического ответа на любое экстремальное воздействие, имеющее в механизме гипоксию, который касается, главным образом, не качественных, а количественных характеристик показателей животных двух фенотипов [50].

В научных публикациях последних лет постулируется утверждение, что устойчивость к гипоксии определяется соотношением интенсивности процессов липопероксидации и функционирования антиоксидантной системы.

Многокомпонентная система антиоксидантной защиты, включающая ферменты и низкомолекулярные соединения, состоит из внеклеточного и внутриклеточного звеньев (рисунок 2). Данные литературы об исходной активности процессов липопероксидации и функционирования антирадикальной системы у животных с разной устойчивостью к гипоксии довольно противоречивы. В известной работе М.Л. Хачатурьян с соавторами [146] показали, что в условиях нормоксии уровень накопления первичных и вторичных продуктов ПОЛ зависит от органа, т.е. является тканеспецифичным, и слабо зависит от устойчивости крыс к гипоксии. В отличие от активности ПОЛ показатели антиоксидантной системы и соотношение ПОЛ/АОС имеют выраженную сопряженность с резистентностью к гипоксии, и наиболее существенные межорганные отличия этих параметров обнаруживаются у НУ крыс.

Другие исследования свидетельствуют о том, что базовая активность процессов ПОЛ сцеплена с устойчивостью к гипоксии. В ткани сердца ВУ животных активность и ПОЛ (по уровню диеновых конъюгатов) и АОЗ в норме была выше, чем у НУ [44]. Предполагается, что высокорезистентные животные обладают особой системой обеспечения O_2 метаболических реакций. В условиях гипоксии при усилении липопероксидации у этих особей значительно активируется ферментное

звено АОЗ, и в результате дисмутации АФК может появляться дополнительный эндогенный молекулярный кислород, что способствует повышению интенсивности анаболических процессов и обеспечивает утилизацию недоокисленных продуктов и регенерацию клеточных структур [50].

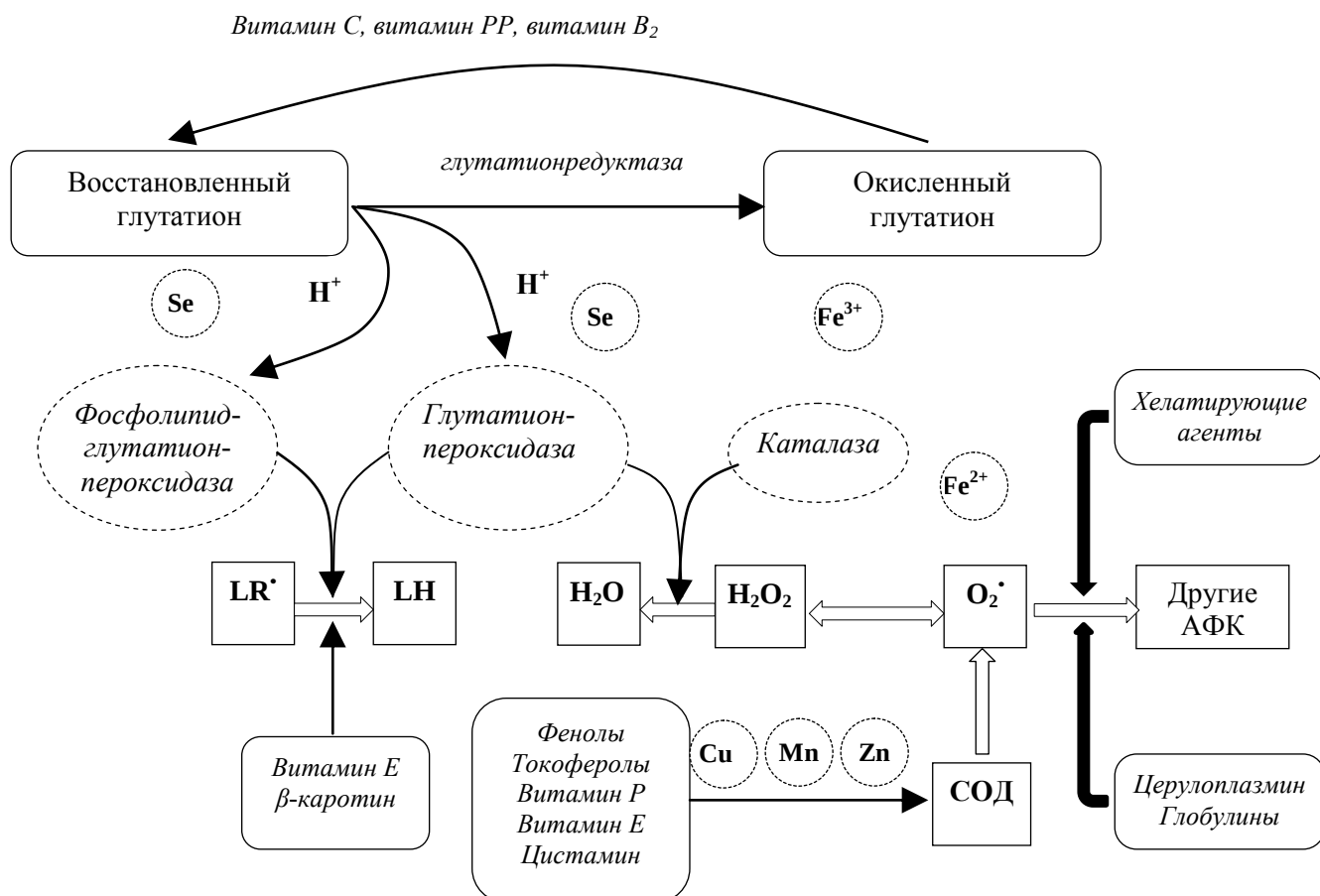


Рисунок 2 – Факторы многокомпонентной системы защиты организма от оксидативного стресса (цит. по [49])

В ряде экспериментальных исследований показано, что после эпизода острой гипобарической гипоксии у неустойчивых к гипоксии крыс определялись значительно более высокие уровни эйкозаноида 8-изопростана и белковых карбониллов, чем у высокоустойчивых животных, что свидетельствует о большем повреждении клеточных макромолекул под действием оксидативного стресса [241; 354].

Анализ плазменных протеомов (совокупности экспрессированных белков в плазме крови) НУ и ВУ крыс с целью изучения молекулярной основы индивиду-

альной реактивности на гипоксию выявил значительное усиление активности антиоксидантных белков, таких как параоксоназы 1 (PON1), транстиретина (TTR), глутатионпероксидазы, С-реактивного белка и гаптоглобина у толерантных животных, и аполипопротеина AI (APO-AI) у нерезистентных животных [354].

Есть основания полагать, что высокие уровни экспрессии параоксоназы 1 у толерантных крыс при гипоксическом воздействии являются одним из факторов формирования устойчивости к гипоксии [354]. PON1 является кальций-зависимым гликопротеином, синтезируемым в печени и циркулирующим в плазме в связи с липопротеинами высокой плотности (ЛПВП). Этот фермент обладает как лактоназным, так и эстеразным действием, выполняя антиоксидантную, а также противовоспалительную функции [384]. Повышение активности PON1 предотвращает окисление как ЛПВП и ЛПНП, что играет положительную роль при атеросклерозе, ишемической болезни сердца и болезни Паркинсона [253; 255, 421]. PON1-нокаутные мыши, напротив, проявляют повышенную восприимчивость макрофагов к окислительному стрессу [358].

Транстиретин – это негативный белок острой фазы, который транспортирует тироксин и ретинол, образующиеся в печени, в плазму. При воспалении снижается его концентрация или изменяется пространственная структура [352]. Он существует в двух формах – тетрамерной и мономерной. Мономерная форма быстро стабилизируется модификациями, вызванными окислительным стрессом. Диссоциация транстиретина в его мономерную форму может сыграть решающую роль в определении состояния окислительного стресса в организме [223]. Кроме того, постоянно низкие уровни сывороточного TTR являются прогностическим фактором летальности [418], а высокие уровни у толерантных животных в условиях гипоксии, напротив, прогностически благоприятным признаком [354].

Среди массива работ, посвященных механизмам формирования функционально-метаболических особенностей индивидуальной естественной толерантности животных к гипоксии, особое место занимают исследования мозга, так как, в конечном счете, именно способность мозга преодолевать недостаток кислорода является решающей в исходе экстремального воздействия.

Есть данные, что в мозге для НУ особой характерен исходно более высокий уровень накопления продуктов липопероксидации на фоне низких показателей антиоксидантной защиты [105]. По другим данным в нормоксических условиях ткань мозга и сыворотка крови НУ и ВУ крыс значимо не различались по показателям ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов. Однако ранняя реакция процессов ПОЛ на мягкий гипоксический стимул, применяющийся при прекондиционировании для лучшей переносимости отсроченного тяжелого воздействия, у крыс с различным фенотипом по чувствительности к гипоксии не одинакова: увеличение накопления в сыворотке ТБК-рп, гидроперекисей, диеновых конъюгатов при отсутствии подобных изменений у НУ свидетельствует о большей лабильности и более легкой инициации свободнорадикальных реакций у ВУ животных [83]. Сбалансированность АОЗ в мозге ВУ крыс в первые часы постгипоксического периода выражена слабее, что снижает ее эффективность. Из этого авторы делают вывод, что при проведении гипоксического прекондиционирования необходимо учитывать чувствительность к гипоксии, т.к. оно может приводить к противоположным изменениям окислительного метаболизма у животных с генетически детерминированными различиями в резистентности к гипоксии.

В экспериментах на крысах показано, что степень восстановления функций высшей нервной деятельности после экстремального гипоксического воздействия также зависит от устойчивости к гипоксии. В нормоксическом состоянии ВУ животные демонстрировали преимущественно уравновешенный тип поведения, а у НУ наблюдалась выраженная поисковая активность и тревожность [105]. В постгипоксическом периоде ВУ сохраняли ряд элементов поведения, показатели эмоциональности у них возрастали, мнестические функции снижались, однако в меньшей степени, чем у НУ. Крысы с низкой толерантностью к гипоксии полностью утрачивали способность к исследовательской активности, у них ограничивались вегетативные проявления эмоциональности, значительно снижались мнестические функции, быстрее формировалось депрессивное состояние. Указанные различия сохранялись на протяжении всего эксперимента (7 суток).

Коллективом исследователей Военно-медицинской академии им. Кирова (Санкт-Петербург) была обнаружена видовая функциональная межполушарная асимметрия головного мозга в устойчивости к гипоксии [100]. В опытах с выключением поочередно левого и правого полушария у мышей линии SHR было показано, что в обеспечении исходной устойчивости к гипоксии доминирующую роль играет правая гемисфера, тогда как левая выполняет антигипоксическую функцию. Причем с повышением устойчивости к гипоксии повышается и степень выраженности функциональной межполушарной асимметрии. По мнению авторов, такие различия обусловлены асимметричным истощением катехоламинов (и, прежде всего, дофамина) при симметричном поражении коры головного мозга. Снижение уровня дофамина приводит к увеличению функциональных резервов дыхательного центра и повышает устойчивость к гипоксии.

Важную роль в механизмах толерантности к гипоксическому повреждению играет активация ряда сигнальных систем.

В качестве мессенджеров в различные пути клеточной сигнализации могут быть вовлечены липидные производные, образованные в ходе процессов ПОЛ. Сигнальные липиды можно разделить по происхождению на несколько групп:

1) производные фосфатидилинозитолфосфата – диацилглицеринацилтрансферазы (DAG) и инозитолфосфаты (IP). DAG является физиологическим активатором протеинкиназы C [291; 380] и транскрипционным фактором ядерного фактора NF- κ B, который способствует выживанию и пролиферации клеток [436]. IP являются представителями семейства липидных производных метаболитов, участвующих в передаче сигнала, что приводит к активации Akt, mTOR [197], и регулирует гомеостаз кальция [216];

2) сфингазин-1-фосфат – сфинголипид, мощный мессенджер, участвующий в регуляции мобилизации кальция, миграции, адгезии и пролиферации клеток крови [399];

3) простагландины – участвуют в воспалительных процессах [192] и реакциях иммунитета [292];

4) фосфатидилсерин – фосфолипид, локализующийся на цитозольной стороне липидного бислоя, играет важную роль в ряде сигнальных путей, включая киназы; появление его на наружной стороне мембраны является маркером апоптоза [294].

В различные сигнальные пути, индуцированные окислительным стрессом, включены также липидные альдегиды, активируя и иницируя образование цитокинов, хемокинов и других биологически активных веществ, способствуя, в конечном счете, выживанию или гибели клеток [12]. В частности, гидроксиноненаль способен регулировать несколько факторов транскрипции, чувствительных к стрессу. Важнейшими из них являются Nrf2 (нуклеарный фактор 2) [256], AP-1 (активирующий протеин-1) [392], NF-κB (нуклеарный фактор каппа би) [275; 337], PPAR (рецепторы, активирующие пролиферацию пероксисом) [277; 367], MAPK (митоген-активируемые протеинкиназные каскады) [349], протеинкиназы C [385].

Цитопротекция у животных устойчивых к гипоксии может происходить через ингибирование апоптических и некротических путей смерти, судьба клеток зависит от равновесия между стрессовыми белками и путями апоптоза, особенно уровней Bcl-2 и Bax [12; 92; 299; 381]. Регуляция экспрессии указанных белков осуществляется, помимо прочих, с участием NFκB, который контролирует синтез белковых регуляторов, блокирующих активацию каспазы-8. NFκB является важным медиатором транскрипционных ответов при ишемии/реперфузии у большинства животных, как устойчивых [299], так и неустойчивых к гипоксическому повреждению [302], что свидетельствует о его важной цитопротективной роли в условиях гипоксии.

Фактор транскрипции p53 регулирует клеточный цикл, энергетический обмен, репарацию повреждений ДНК и апоптоз [441]. При исследовании p53-индуцированного гликолиза и апоптоза было показано, что активация p53 уменьшала производство активных форм кислорода и приводила к повышению уровня восстановленного глутатиона [431]. Обнаружено также, что в мозге *T.s.elegans* после эпизодов гипоксии [321; 340] белок p53 активирует цитопротективные сиг-

нальные пути фосфоинозитид-3-киназа/протеинкиназа В (PI3K/Akt) [282] и внеклеточной регулируемой киназы ERK1/2 [183; 340]. Есть данные, что цитопротекторный эффект ишемического preconditionирования связан с активацией пути PI3K/Akt [36].

Защитный эффект протеинкиназы В осуществляется, возможно, за счет взаимодействия с семейством белков Bcl-2 [350] и с другими компонентами толерантности к гипоксии, пути которых связаны с увеличением аденозина. Блокада рецепторов аденозина A1 (A1R) предотвращает их активацию, и увеличивает уровни проапоптотических факторов JNK, p38MAPK и Bax [340]. Кроме того, блокада A1R увеличивает образование активных форм кислорода и вызывает гибель клеток, несмотря на высокие уровни антиоксидантов [321]. Воздействие аденозина на образование АФК может произойти частично за счет Bcl-2, а его избыточная экспрессия уменьшает гибель клеток при окислительном стрессе за счет повышения уровня антиоксидантов и подавления свободных радикалов [282].

В формировании устойчивости мозга к гипоксии принимают участие протеинкиназы С (PKC) [364]. Это семейство многофункциональных ферментов путем фосфорилирования различных целей играет важнейшую роль в трансдукции многих клеточных сигналов, таких как контроль пролиферации, выживания и трансформации клеток [12]. Активация PKC-ε ингибирует Na^+/K^+ -АТФазу, что приводит к коллапсу ионного транспорта во время гипоксии и задержке ишемической деполяризации (ID) [398]. Селективный ингибитор PKC-ε снижает активацию этой изоформы в срезах мозга как крыс, так и арктических сусликов [371]. Блокирование или задержка ID может значительно улучшить восстановление нейронов [202]. Потеря нейронами при ишемии мембранного потенциала приводит к массивному выбросу нейромедиаторов, в том числе нейротрансмиттера глутамата, который активизирует в межклеточном пространстве NMDA и AMPA рецепторы, вызывая эксайтотоксичный приток кальция. Вслед за этим запускаются каскады активации липазы, протеазы, эндонуклеаз и митохондриально-зависимый апоптоз, в результате которых происходит повреждение и гибель клетки [304].

Независимыми друг от друга группами исследователей было установлено, что прекондиционирующее гипоксическое воздействие приводит к транслокации изоформ РКС γ , РКС β , РКС ϵ и увеличению их количества в мембранах клеток коры головного мозга и гиппокампа при неизменной активности других изоферментов, ассоциированных с клеточными мембранами, в частности, РКСа [36]. Таким образом, нейропротекторный эффект может быть связан с РКС γ , РКС β , РКС ϵ -изоформами протеинкиназы С.

1.4. Патофизиологические основы применения комплексных энергосберегающих антигипоксических средств в коррекции гипоксических состояний

Проблема поиска и патогенетическое обоснование применения химических соединений, повышающих резистентность организма к острому гипоксическому воздействию и ишемии, уже многие десятки лет является одной из приоритетных задач фундаментальной и прикладной медицины

В наиболее широком смысле гипоксия определяется как несоответствие потребности клетки в энергии ее продукции в системе окислительного фосфорилирования митохондрий. И преодоление этого несоответствия с помощью препаратов, поддерживающих энергетический баланс клетки, имеет самые широкие перспективы, поскольку нормальная энергетика клетки является основой ее жизнедеятельности и определяет все прочие функции. Применение антигипоксантов в критических состояниях может предотвращать развитие необратимых изменений в органах и вносить решающий вклад в спасение больного [7]. В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что наилучшие результаты в лечении гипоксических состояний достигаются при включении в комплекс терапевтических мероприятий энергосберегающих антигипоксических средств [99].

Поддержание энергетического баланса клетки может осуществляться несколькими путями [7]:

- повышение эффективности использования митохондриями O_2 вследствие предупреждения или ограничения разобщения окисления и фосфорилирования, а также стабилизации мембран митохондрий;
- оптимизация реакций цикла Кребса, поддержание активности сукцинатоксидазного звена;
- восполнение утраченных элементов дыхательной цепи;
- шунтирование перегруженной электронами дыхательной цепи искусственными переносчиками электронов;
- более экономное использование кислорода и снижение потребности тканей в кислороде либо ингибирование процессов нефосфорилирующего (свободнорадикального и микросомального) окисления;
- увеличение образования АТФ в ходе гликолиза без увеличения продукции лактата;
- снижение расходования АТФ клеткой на процессы, не являющиеся необходимыми для экстренного поддержания жизнедеятельности в критических ситуациях;
- введение извне высокоэнергетических соединений.

Реализация этих принципов в клинической практике осуществляется путем применения антигипоксантов. В настоящее время широко используется следующая классификация, основанная на механизме действия препаратов (Оковитый С.В., Смирнов А.В., 2005) [7]:

- ингибиторы окисления жирных кислот;
- сукцинатсодержащие и сукцинатобразующие средства;
- естественные компоненты дыхательной цепи;
- искусственные редокс-системы;
- макроэргические соединения.

Среди указанных подходов к коррекции гипоксии пристальное внимание исследователей привлекает оптимизация цикла трикарбоновых кислот, физиологическое функционирование которого является важнейшим условием нормальной жизнедеятельности организма [114].

Циркуляторная гипоксия, прогрессивно нарастающая во время остановки системного кровообращения, вызывает нарушение энергетического баланса организма с присоединением тканевой гипоксии: вследствие снижения напряжения кислорода в митохондриях ингибируется активность НАД-оксидаз цикла трикарбоновых кислот и угнетается сопряженное с митохондриальным окислением фосфорилирование. Формирование смешанного типа гипоксии имеет тяжелые последствия для организма, вызывая гибель клеток по механизму гипоксического некробиоза [52; 87]. Реперфузия усугубляет дистрофические и некробиотические изменения клеток и приводит к масштабным последствиям, обозначаемым как окислительный стресс [39; 102; 114], а возврат токсических метаболитов в общий кровоток приводит к развитию системных осложнений [169].

При гипоксии ФАД-зависимый II ферментный ансамбль дыхательной цепи митохондрий угнетается позднее, чем НАД-зависимые оксидазы, поскольку окисление янтарной кислоты в дыхательной цепи цикла Кребса не зависит от НАД-зависимых ферментов. Это звено цикла трикарбоновых кислот может определенное время поддерживать энергопродукцию при наличии в митохондриях субстрата окисления – янтарной кислоты [7; 10].

При стресс-реакциях и экстремальных состояниях в организме создаются условия нейрохимической регуляции, позволяющие сукцинату монополизовать дыхательную цепь по отношению к другим НАД-зависимым субстратам окисления [114; 151]. Масштабный выброс катехоламинов обеспечивает увеличение мощности дыхательной цепи, которое в несколько раз может превосходить окисление субстратов в цикле Кребса при значительно меньшей потребности в кислороде. Под влиянием катехоламинов в надпочечниках начинает накапливаться янтарная кислота, которая действуя как адреномиметик, запускает образование катехоламинов. Катехоламины, выступая как сукциномиметики, через механизмы окисления вновь стимулируют образование янтарной кислоты. Такая цепная реакция имеет следствием обеспечение янтарной кислоте доминирующей роли во всей дыхательной цепи. Кроме того, в условиях начинающейся гипоксии при дефиците окисленного НАД идет процесс образования сукцината через яблочную и

фумаровую кислоты. Параллельно образуется АТФ и происходит регенерация НАД⁺ из НАДФ⁺, т.е. снимается блокада цикла трикарбоновых кислот [114; 151].

Однако при критических состояниях дефицит энергии становится невозполним никакими средствами компенсации, так как проблема гипоксии не может быть решена без поступления энергетического субстрата. И введение сукцината для нормального функционирования цикла Кребса при любом критическом состоянии может явиться своеобразным протезированием энергетического дефицита [113; 114].

К настоящему времени установлено, янтарная кислота осуществляет свои эффекты через пуринэргические мембранные рецепторы семейства P2Y, сопряженные с ГТФ-связывающими G_i, G_q/G₁₁ белками [170]. Эти рецепторы возбуждаются сукцинатом и имеют свое обозначение SUCNR1. В физиологических условиях концентрация содержащегося в крови сукцината для возбуждения SUCNR1-рецепторов недостаточна. Однако при значительных клеточных повреждениях, гипоксии, активации СРО происходит утечка сукцината из митохондрий, и порог возбуждения рецепторов превышает, что позволяет рассматривать SUCNR1-рецепторы как маркеры клеточных стресс-индуцированных повреждений и гипоксии [7; 170]. SUCNR1-рецепторы локализованы в почках, печени, сердце, жировой ткани, кишечнике, селезенке, нейронах сетчатки. Активация рецепторов экзогенным сукцинатом увеличивает реабсорбцию фосфата и глюкозы, стимулирует глюконеогенез, повышает артериальное давление (через не прямое увеличение образования ренина) [7] (рисунок 3).

С этой точки все более широкое практическое применение находят препараты, содержащие янтарную кислоту. Одним из хорошо зарекомендовавших себя антигипоксантов с комбинированным действием является отечественный препарат цитофлавин (ПОЛИСАН НТФФ ООО, г. Санкт-Петербург).

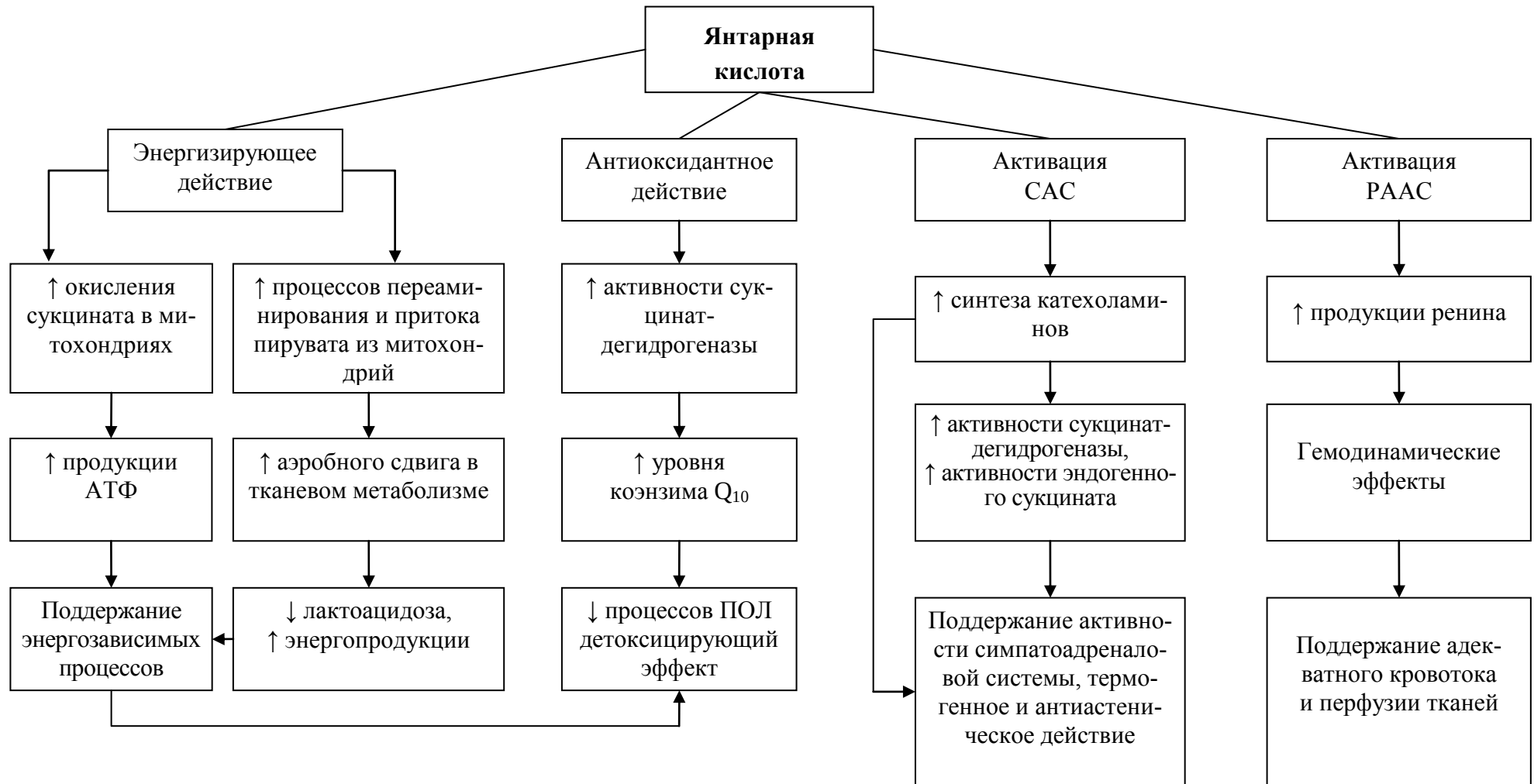


Рисунок 3 – Некоторые эффекты экзогенно вводимой янтарной кислоты [7]
 Примечание: САС – симпатoadреналовая система, РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система

Помимо янтарной кислоты, являющейся важнейшим субстратом цикла трикарбоновых кислот, способным окисляться оксидазным и дегидрогеназным путями с образованием АТФ [28], а также трансформироваться в ГАМК, в комплекс добавлен рибофлавин, который за счет своих коферментных свойств способен увеличивать активность сукцинатдегидрогеназы, а кроме того обладает непрямым антиоксидантным действием, восстанавливая окисленный глутатион [7; 11].

Никотинамид – прекурсор коферментов НАД⁺ и НАДФ⁺, соотношение которых является главным регуляторным механизмом цикла трикарбоновых кислот. Предполагается, что введенный извне никотинамид активирует НАД-зависимые ферменты и влияет, таким образом, на окислительное фосфорилирование [32].

Инозин повышает скорость анаэробного гликолиза и является миметиком рецепторов пуринергических систем, за счет чего достигается увеличение содержания общего пула пуриновых нуклеотидов, необходимых для ресинтеза макроэргов (АТФ и ГТФ), вторичных мессенджеров (цАМФ и цГМФ), а также нуклеиновых кислот [11; 32]. Кроме того инозин способен подавлять активность ксантиноксидазы, уменьшая продукцию АФК [7].

Компоненты препарата оказывают взаимопотенцирующее метаболотропное и энергокорректирующее действие, влияющее на межклеточный обмен веществ, способствующее повышению продукции энергии в клетках всех типов [32]. Все это в конечном итоге приводит к оптимизации цикла трикарбоновых кислот, способствуя быстрому ресинтезу АТФ и предотвращая прогрессирование постишемического энергодефицита на системном уровне [32; 106].

Цитофлавин является антиоксидантом, действие которого проявляется не только в уменьшении продукции свободных радикалов, но и в восстановлении активности ферментов АОЗ, что характерно далеко не для всех антиоксидантов [11].

Эти свойства позволили широко использовать препарат в разных областях клинической медицины при состояниях, в которых в качестве базисных патоло-

гических процессов выступают гипоксия и оксидативный стресс. Многоцентровые, рандомизированные исследования, параллельно проходившие в различных центрах доказали клиническую эффективность цитофлавина при хирургических операциях на сердце, перитонитах и в послеоперационной реабилитации онкологических больных [11].

Назначение цитофлавина при инсульте в ранние сроки (до 12 часов) за счет коррекции патохимических факторов ишемического каскада: метаболического дисбаланса (стимуляция гликолиза, активация реакций цикла Кребса), оксидативного (торможение образования свободных радикалов), нейромедиаторного (неконкурентный антагонизм с глутаматными рецепторами) и цитокинергического дисбалансов (увеличение образования противовоспалительных цитокинов) – снижало общую летальность в 2,4 раза, трехдневную летальность на 13,5% [11]. Применение препарата в реабилитационном периоде (срок наблюдения до 120 суток) вызывало положительную динамику очаговой симптоматики, подтвержденную нейровизуализацией, приводило к сокращению сроков пребывания в отделении интенсивной терапии [32; 161].

Цитофлавин предлагается использовать для коррекции гипоксических состояний, вызванных неадекватной доставкой кислорода к тканям (гипотиреоз, гипотермия), что обусловлено, в частности, рецепторной функцией янтарной кислоты в отношении G-белков, регулирующих активность нуклеотидных рецепторов в клетке, и рецепторов аденозинергических систем (A1, A2A, A2B, A3) [81].

Встречаются работы, рассматривающие возможности метаболической коррекции сукцинатсодержащими препаратами при критических состояниях: полиорганной недостаточности в раннем периоде травматического эндотоксикоза [51; 113], при экспериментальной острой кровопотере [54]. Противогипоксическое, антиоксидантное, противовоспалительное действие цитофлавина вызывает стабилизацию жизненно важных функций легких, печени и почек, редукцию показателей оксидативного стресса, снижение летальности, сроков пре-

бывания в отделении интенсивной терапии, числа гнойно-септических осложнений [11].

Сосудорасширяющее и коронародилатирующее, хроно- и инотропное, центральное противовоспалительное и нейропротективное действие, снижение интенсивности апоптоза в нервной ткани за счет активации фактора роста нервных клеток, описываемые в научной литературе [32; 81] – все эти эффекты, обусловленные компонентами цитофлавина, вызывают большой теоретический и практический интерес. Внимание большинства исследователей привлечено, как правило, к патологическим процессам, протекающим в одном органе, и ограничено коротким временным интервалом, если речь идет о критическом состоянии (1-3 суток). Тем не менее до сих пор остаются малоизученными вопросы влияния препарата на метаболические процессы в различных органах в длительном постреанимационном периоде после критических состояний, вызванных системным воздействием.

Свойства ингредиентов цитофлавина объясняют возможность его успешного применения как в неотложной медицине, так и в реабилитации больных после инсультов, черепно-мозговых травм, в послеоперационном периоде, при хронической сердечной недостаточности и т.д. [11], что подтверждается экспериментальными исследованиями на животных [54; 75; 80; 161]. Положительный метаболотропный эффект цитофлавина, полученный при моделировании патологических состояний, звеньями патогенеза которых являются гипоксия и оксидативный стресс, демонстрирует его возможности не только в комплексной терапии критических состояний, но и как препарата для реабилитации. В частности, если принять во внимание, что длительность 1 дня жизни крысы соответствует 26,7 дня жизни человека [177], то применение препарата в течение 10 дней соответствует длительному периоду реабилитации у человека.

Таким образом, анализ данных литературы позволяет констатировать следующее:

- критические состояния и вызванные ими гипоксические и ишемически-реперфузионные осложнения являются важной социально-медицинской про-

блемой в связи с высокой летальностью, как ранней, так и отсроченной, а также значительной степенью инвалидизации;

- степень повреждения и возможности восстановления организма после перенесенного гипоксического воздействия зависят от видовых и индивидуальных особенностей метаболизма и связанных с ними типов адаптационной стратегии;
- важную роль в механизмах устойчивости к гипоксии играют центральные кортикостероидные рецепторы (глюко- и минералокортикоидные), непосредственно участвующие в стрессовой трансформации нейро-эндокринной регуляции, а также их соотношение в определенных отделах мозга;
- комплексных исследований влияния ишемии-реперфузии на содержание периферических кортикостероидных рецепторов в тканях, а также их соотношение в длительной динамике после перенесенной системной гипоксии не проводилось;
- ведущее место в патогенезе гипоксии занимает митохондриальная дисфункция с нарушением окислительного фосфорилирования и развитием энергодефицита, в связи с чем важнейшим перспективным патогенетическим механизмом коррекции гипоксии является введение энергетического субстрата, не зависящего от функциональности НАД-зависимых ферментов цикла трикарбоновых кислот

Имеющиеся в литературе данные позволяют предположить наличие нескольких факторов, влияющих на особенности развития метаболических нарушений в динамике восстановительного периода у животных с разным типом устойчивости к гипоксии:

1. Различия базальной и индуцированной активности системы антиоксидантной защиты у животных с разной устойчивостью к гипоксии.
2. Ткане- и органоспецифические особенности изменения соотношения процессов липопероксидации и окислительной модификации белков во взаимосвязи с типами устойчивости к гипоксии.
3. Наличие двусторонних взаимосвязей между активностью кортикостероидных рецепторов, отражающих степень вовлечения гормонов гипоталамо-

гипофизарно-адреналовой системы в регуляцию метаболических процессов в тканях, и интенсивностью свободнорадикального окисления.

В этой связи основными задачами предпринятых нами исследований стали комплексная оценка нарушений окислительного метаболизма и гормонального статуса во взаимосвязи с содержанием глюко- и минералокортикоидных рецепторов, устойчивостью к гипоксии, а также оценка эффективности экспериментальной коррекции выявленных нарушений.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальная работа была выполнена на 1187 здоровых половозрелых беспородных белых крысах-самцах массой 200-220 г. При выполнении экспериментальных исследований руководствовались этическими принципами, декларированными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986) [245]. Основные правила содержания и ухода за экспериментальными животными соответствовали нормативам, определенным в Приказе Минздрава России №199н от 01.04.2016 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Животных содержали на стандартном рационе вивария при свободном доступе к воде. Опыты проводили в первой половине дня. Условия проведения экспериментов для контрольных и опытных групп были идентичными. Все исследования были одобрены локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.

Эксперименты были проведены в два этапа. На первом этапе были исследованы особенности метаболических процессов в крови и тканях крыс с различной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода после перенесенной остановки системного кровообращения. На втором этапе проводили коррекцию течения восстановительного периода после тяжелой повреждающей гипоксии комплексным антигипоксантом «Цитофлавин» и исследовали его влияние на указанные процессы в зависимости от устойчивости к гипоксии.

2.1. Методы экспериментального моделирования

2.1.1. Тестирование крыс на устойчивость к гипоксии

Для снижения гипоксического повреждения тканей во время определения исходной устойчивости к гипоксии нами была предложена модификация известного способа, в котором мерой чувствительности животного к гипоксии

служит время жизни на высоте до появления агонального дыхания [86]. Предложенный нами способ отвечает задачам нашей экспериментальной модели, поскольку не допускает появления агонального дыхания, являющегося признаком развития глубокого торможения на уровне продолговатого и спинного мозга, которое сопровождается гипоксическим повреждением мозговых структур, в первую очередь корковых. Результаты этого исследования мы отразили в патенте [145]. Не ранее чем через неделю после проведенного тестирования животных помещали в барокамеру, поднимали на высоту 9 000 м без промежуточных остановок со скоростью 50 м/с. Высота 9 000 м является пороговой величиной устойчивости для животных с наличием заболеваний [6]. При подъеме регистрировали высоту, на которой возникали первые признаки угнетения двигательной активности. На площадке 9 000 м животных выдерживали 10 мин (среднее время экспозиции, определенное экспериментальным путем). При спуске регистрировали высоту, на которой возобновляется двигательная активность. После спуска животного проводили неврологическое тестирование и фиксировали время восстановления позных реакций. Каждый признак оценивали в баллах (таблица 1):

Таблица 1 – Балльная оценка устойчивости к гипоксии

Значения высоты подъема, на которой угнетается двигательная активность, в баллах						
Высота, м	4000	5000	6000	7000	8000	9000
Баллы	30	25	20	15	10	5
Значения высоты спуска, на которой возобновляется двигательная активность, в баллах						
Высота, м	8000	7000	6000	5000	4000	
Баллы	5	10	15	20	25	
Значения времени восстановления корковых рефлексов – реакции постановки лап на опору и хватания, в баллах						
Время, мин	1	2	3	5	7	10
Баллы	1	4	8	12	24	48
Значения времени восстановления рефлексов, замыкающихся на уровне среднего мозга и Варолиева моста – рефлексов переворачивания и равновесия, в баллах						
Время, мин	1	2	3	5	7	10
Баллы	1	6	12	24	48	96

Полученные баллы суммировали. При значении суммы 25 баллов и менее животных относили к высокоустойчивым, 26-70 баллов – к среднеустойчивым, 71-116 баллов – к низкоустойчивым, 117-199 баллов – к неустойчивым к гипоксии. Животных, у которых отмечались судороги, признавали неустойчивыми к гипоксии независимо от количества набранных баллов.

В эксперимент брали животных, отнесенных к двум крайним по устойчивости группам: высокоустойчивым (ВУ) и неустойчивым (НУ) к гипоксии.

2.1.2. Моделирование системной остановки кровообращения

Для моделирования экстремальной гипоксии была выбрана модель остановки системного кровообращения путем пережатия сосудисто-нервного пучка сердца. За сутки до моделирования тотальной ишемии крыс прекращали кормить, в воде не ограничивали. Острая остановка системного кровообращения воспроизводилась по методике Корпачева В.Г. (1982) [70] под общим эфирным наркозом. Для пережатия сосудистого пучка использовали специальный Г-образный крючок, который вводили в грудную полость на уровне второго межреберья справа по парастеральной линии с направлением оси держателя параллельно позвоночнику. Затем держатель поворачивали в положение, перпендикулярное оси позвоночника (конец иглы был направлен каудально) и мягко опускали до упора вниз. Затем поворотом по оси держателя налево прижимающую часть подводили под основание сердца. Над прижимной частью оказывался весь сосудистый пучок сердца, в который входят нижняя полая, безымянная, легочные вены, легочная артерия, а также аорта. Далее зажим приподнимали вверх по направлению к груди. Сосудистый пучок оказывался пережатым между внутренней поверхностью грудины и прижимной частью иглы. Кровообращение в организме полностью прекращалось. Момент прижима с остановкой кровообращения, зафиксированный при электрокардиографии, считали началом клинической смерти. Через 3 минуты, производя манипуляции в обратном по-

рядке, извлекали крючок, интубировали трахею и через 5 минут с момента пережатия сосудистого пучка начинали реанимационные мероприятия.

Наружный массаж сердца проводили ударами указательного пальца по груди на уровне четвертого межреберья с частотой 200 в минуту. Для искусственной вентиляции легких (ИВЛ) использовали аппарат, создающий активный вдох. Режим альвеолярной вентиляции выбирался из расчета 35-40 дыхательных движений в минуту, 1-1,5 мл воздуха на 100 г массы тела. После стабилизации самостоятельного дыхания ИВЛ прекращалась.

В протоколах фиксировалось время первого вдоха, а также возобновления сердечной деятельности, роговичных рефлексов. По истечении 1-х, 3-, 5-, 7-, 14-, 21- и 35-х суток животных под эфирным наркозом выводили из эксперимента декапитацией и осуществляли забор крови и органов для исследования (таблица 2).

2.1.3. Методы введения и дозирование препарата «Цитофлавин»

В 1 мл раствора цитофлавина для внутривенного введения содержится: янтарная кислота – 100 мг, инозин – 20 мг, никотинамид – 10мг, рибофлавина мононуклеотид – 2 мг; в качестве вспомогательного вещества используется трансмембранный переносчик янтарной кислоты меглумин (N-метилглюкамин) – 165 мг. Раствор цитофлавина (0,2 мл лекарственного препарата «Цитофлавин» в 0,1мл 0,9% раствора NaCl) вводили в течение 10 суток ежедневно однократно внутривенно в хвостовые вены крыс при помощи инфузионного насоса со скоростью 0,5 мл в минуту. Первое введение производили в конце реанимационных мероприятий после стабилизации самостоятельного дыхания. При выборе режима дозирования руководствовались общепринятыми экспериментальными подходами, изложенными в литературе [75; 132; 161], а также способом межвидового переноса доз с учетом взаимоотношения между массой и площадью поверхности тела человека и лабораторных животных, рекомендованных «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [132].

Таблица 2 – Дизайн исследования

Этапы исследования	Группы животных	Исследуемые показатели
1 этап – исследование особенностей метаболических процессов в крови и тканях крыс с различной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода после перенесенной остановки системного кровообращения. n=721	1. Контрольная группа крыс с высокой устойчивостью к гипоксии n=30	Исследование неврологического статуса и паттернов поведения крыс в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт»
	2. ВУ – опытная группа крыс с высокой устойчивостью к гипоксии, перенесшая остановку системного кровообращения n=285	Адренокортикотропный гормон, кортикостерон, альдостерон плазмы крови
	3. Контрольная группа крыс с низкой устойчивостью к гипоксии n=30	Глюко- и минералокортикоидные рецепторы в гомогенатах тканей
	4. НУ – опытная группа крыс с низкой устойчивостью к гипоксии, перенесшая остановку системного кровообращения n=376	ТБК-рп в плазме и гомогенатах тканей. Карбонилированные белки, металл-катализируемое окисление белков, битирозин, резервно-адаптационный потенциал крови, гомогенатов тканей. Общая антиоксидантная активность крови, активность СОД в эритроцитах и гомогенатах, каталазы в эритроцитах, сыворотке крови и гомогенатах тканей, глутатионпероксидазы крови, глутатион-S-трансферазы крови, содержание глутатиона восстановленного в тканях.
		Гистологические исследования мозга – окраска гематоксилином и эозином и толуидиновым синим; иммуногистохимический метод с антителами к глиофибрилярному кислому протеину.

Продолжение таблицы 2		
Этапы исследования	Группы животных	Исследуемые показатели
2 этап – коррекция течения восстановительного периода комплексным антигипоксантом «Цитофлавин» n=466	1. Контрольная группа крыс с высокой устойчивостью к гипоксии, перенесшая остановку системного кровообращения и получавшая физраствор n=103 2. ВУ+ЦФ – опытная группа крыс с высокой устойчивостью к гипоксии, перенесшая остановку системного кровообращения и получавшая цитофлавин n=103 3. Контрольная группа крыс с низкой устойчивостью к гипоксии, перенесшая остановку системного кровообращения и получавшая физраствор n=134 4. НУ+ЦФ – опытная группа крыс с низкой устойчивостью к гипоксии, перенесшая остановку системного кровообращения и получавшая цитофлавин n=126	Исследование неврологического статуса и паттернов поведения в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт»
		Адренкортикотропный гормон, кортикостерон, альдостерон плазмы крови
		Глюко- и минералокортикоидные рецепторы в гомогенатах тканей
		ТБК-рп в плазме и гомогенатах тканей. Карбонилированные белки, металл-катализируемое окисление белков, битирозин, резервно-адаптационный потенциал крови, гомогенатов тканей. Общая антиоксидантная активность крови, активность СОД в эритроцитах и гомогенатах, каталазы в эритроцитах, сыворотке крови и гомогенатах тканей, глутатионпероксидазы крови, глутатион-S-трансферазы крови, содержание глутатиона восстановленного в тканях.

Контрольным животным, прошедшим предварительный отбор по признаку «устойчивость к гипоксии», после перенесенной остановки коровообращения и реанимации вместо цитофлавина в указанные сроки вводили 0,3 мл 0,9% раствора NaCl. По истечении 1-х, 3-, 5-, 7-, 14-, 21- и 35-х суток животных под эфирным наркозом выводили из эксперимента декапитацией и осуществляли забор крови и органов для исследования.

2.2. Методы анализа экспериментальных данных

2.2.1. Исследование неврологического статуса, высшей нервной деятельности и поведенческих реакций

На протяжении 35 дней восстановительного периода в контрольные отрезки времени (1-е, 3-и, 5-е, 7-, 14, 21, 35-е сутки) для количественной оценки неврологического статуса крыс использовался показатель общего состояния животного, представляющий сумму баллов на данный момент исследования, предложенный [90] в нашей модификации [56] (таблица 3).

Состояние клинической смерти максимально оценивалось в 130 баллов. Состояние животных, оцененное в 90-130 баллов, принималось за тяжелое, 60-90 баллов - средней тяжести, менее 60 баллов легкой степени тяжести.

В эти же отрезки времени велось исследование высшей нервной деятельности по уровню ориентировочно-исследовательской активности и эмоционально-психических реакций: тесты «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт».

Тест «открытое поле» [10; 21; 107; 174]. Для теста использовали открытую арену размером 100x100 см с высотой бортов 100 см. Пол арены расчерчен на 25 квадратов, в точках пересечений сделаны круглые отверстия диаметром 3 см. Крысу помещали в левый угол камеры и в течение 5 мин с помощью видеосъемки фиксировали элементы поведения (паттерны):

1) обнюхивание (принюхивание) и поворот головы (О);

Таблица 3 – Система балльной оценки неврологического статуса крыс

№	Исследуемый показатель	Баллы	№	Исследуемый показатель	Баллы	№	Исследуемый показатель	Баллы
1	<i>Рефлекс переворачивания</i>			повышенный или пониженный	2+2		неопрытный	2
	нормальный	0		отсутствует	4+4	19	<i>Отношение к еде</i>	
	слабый	2	10	<i>Тонус мышц передних конечностей D+S</i>			ест	0
	отсутствует	4		нормальный	0		не ест	2
2	<i>Тестирование равновесия</i>	0		повышенный или пониженный	2+2	20	<i>Отношение к воде</i>	
	нормальное	2		отсутствует	4+4		пьет	0
	слабое	4	11	<i>Судороги</i>			не пьет	2
	отсутствует			отсутствуют	0	21	<i>Роговичный рефлекс D+S</i>	
3	<i>Рефлекс постановки лап на опору</i>			клонические	2		нормальный	0
	нормальный	0		тонические	6		слабый	2+2
	слабый	2	12	<i>Поддержание температурн. гомеостаза</i>			отсутствует	8+8
	отсутствует	4		удовлетворительное 35,5 - 37,5°C	0	22	<i>Зрачковый рефлекс D+S</i>	
4	<i>Рефлекс сгибания</i>			гипертермия выше 37,5 °C	2		нормальный	0
	нормальный	0		гипотермия ниже 35,5 °C	4		слабый	2+2
	слабый	2	13	<i>Патол. самопроизв. движения в конечн.</i>			отсутствует	6+6
	отсутствует	4		нет	0	23	<i>Экзофтальм</i>	
5	<i>Рефлекс отдергивания хвоста</i>			есть	4		нет	0
	нормальный	0	14	<i>Ответ на шумовой раздражитель</i>			есть	2
	слабый	2		нормальный	0	24	<i>Зрение</i>	
	отсутствует	4		снижен, повышен, неадекватный	2		есть	0
6	<i>Р. растопыривания пальцев задних лап</i>			отсутствует	4		нет	6
	нормальный	0	15	<i>Реакция на боль</i>		25	<i>Характер сердцебиения</i>	
	слабый	2		адекватная	0		нормальное	0
	отсутствует	4		снижена или парадоксальная	2		учащенное	2
7	<i>Рефлекс хватания</i>			отсутствует	4		замедленное	4
	нормальный	0	16	<i>Поведенческие реакции</i>			остановка	6
	слабый	2		нормальные	0	26	<i>Характер дыхания</i>	
	отсутствует	4		гипо- или гиперактивность, агрессивн.	2		нормальное	0
8	<i>Сохранение нормальной позы</i>			невозможно определить из-за тяж. сост.	6		замедленное или учащенное	2
	устойчивая	0	17	<i>Груминг</i>			с участием вспомогательной мускулат.	4
	атаксия	2		есть	0		апноэ	6
	отсутствует	4		нет	2			
9	<i>Тонус мышц задн. конечностей D+S*</i>		18	<i>Внешний вид</i>			<i>* D+S– справа и слева</i>	
	нормальный	0		опрытный	0			

2) горизонтальная двигательная активность (ГДА) животных, включающая перемещение по разным траекториям (П), движение (кружение) на одном месте (Дн).

Основным критерием для регистрации являлось участие в перемещении животного всех четырех лап. За условную единицу принималось пересечение одного сектора, когда животное, находившееся в одном секторе всеми четырьмя лапами, переходило в смежный с ним, пересекая задними лапами разделительную линию. Отдельно регистрировали ГДА на периферии, во внутренних квадратах и в центре арены.

3) Вертикальная двигательная активность (ВДА) определялась по количеству стоек: rearing – вертикальная стойка на задних лапах без упора передними лапами в стену камеры (Вс), climbing – вертикальная стойка на задних лапах с упором передними лапами в стену (Су);

4) Неподвижные паттерны: сидит (С), замирание (фризинг, Ф).

5) Исследовательский паттерн – обнюхивание краев круглых отверстий пола камеры или засовывание головы внутрь отверстий – «норок» (Н)

6) Груминг (вылизывание шерсти, умывание морды, почесывание). Отдельно учитывали акты короткого (1-2 быстрых круговых движения лап вокруг носа и небольшой области около него) и длительного (умывание области глаз, заведение лап за уши и переход на умывание головы и всего туловища) груминга.

7) Дефекация (общее количество болюсов) считается индексом «эмоциональности» животного.

Рассчитывали объем паттернов. Все паттерны систематизировали, после чего выделяли следующие интегральные характеристики индивидуального поведения:

- Эмоциональная тревожность: сумма паттернов «движение на месте», «вертикальная стойка», «стойка с упором» $ЭТ = Дн + Вс + Су$ [107].
- Ориентировочно-исследовательская активность: сумма активных паттернов «перемещение», «обнюхивание», «норка» $ОИА = П + О + Н$ [10].

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) выполнялся в лабиринте, приподнятом над полом на 50 см и имеющем 4 рукава: два закрытых (со стенками) и два открытых (без стенок). Длина каждого из 4 рукавов лабиринта – 50 см, ширина – 14 см, высота светонепроницаемых бортиков двух противоположных закрытых – 30 см, высота бортиков открытых рукавов 1 см, центральная площадка – 14×14 см.



Рисунок 4 – Приподнятый крестообразный лабаринт

Животное помещали на центральную площадку лабиринта и в течение 5 мин проводили видеофиксацию его поведенческих паттернов, с последующей систематизацией и посчетом [117; 372]:

- 1) время пребывания в закрытых рукавах, сек;
- 2) время пребывания в открытых рукавах, сек;
- 3) время пребывания на центральной площадке, сек;
- 4) число свешиваний с открытых рукавов;
- 9) число актов груминга;
- 10) общее количество болюсов.

2.2.2. Изучение гормонального профиля плазмы крови

Иммунорадиометрическим методом с использованием стандартных тест-систем фирмы IMMUNOTECH (Франция) определяли содержание адренокортикотропного гормона (выражали в пг/мл). С использованием радиоиммунологи-

ческого метода и стандартных тест-систем IMMUNOTECH (Чехия) исследовали уровень кортикостерона (выражали в нмоль/л) и альдостерона (пг/мл).

2.2.3. Изучение содержания глюко- и минералокортикоидных рецепторов

Изучение содержания глюко- и минералокортикоидных рецепторов тканевых гомогенатах осуществляли методом иммуноферментного анализа, используя стандартные тест-наборы ELISA Kit (Китай), предназначенные для тканей крыс. В протокол пробоподготовки входили:

1. Забор ткани, тщательное промывание ткани в ледяном фосфатно-солевом буфере (ФСБ) 0,01 моль/л, рН 7,0-7,2 для удаления крови.
2. Приготовление навески тканей.
3. Гомогенизация в ФСБ стеклянным гомогенизатором на льду.
4. Тройной цикл замораживания-размораживания для разрушения клеточных мембран.
5. Центрифугирование в течение 5 мин с ускорением 5000g при температуре 5°C. Аллиquotирование образцов (супернатанта) и хранение при температуре менее -20°C.

Приготовленные образцы использовали также для определения содержания белка с использованием набора реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия) (метод с пирогалловым красным). Результаты пересчитывали на г/белка по формуле $C = E/E_k \times 0,50$, где 0,5 концентрация белка в калибраторе, E – оптическая плотность опытной, E_k – калибровочной проб.

2.2.4. Оценка состояния прооксидантно-антиоксидантной системы

Определение ТБК-реагирующих продуктов. Продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-рп) определяли с помощью набора реактивов «ТБК-АГАТ» (фирма ООО «АГАТ-МЕД», Москва). Принцип метода основан на образовании продуктами перекисного окисления липидов и тиобарбитуровой

кислотой окрашенного комплекса, экстрагируемого бутанолом. Содержание ТБК-рп выражали в мкмоль/г ткани.

Определение содержания карбонилированных белков. Определяли базальный уровень карбонилирования белков и интенсивность металл-катализируемого окисления [8; 46; 110; 111; 156; 290]. Принцип метода основан на реакции продуктов окислительной модификации белков с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ) с последующей спектрофотометрической регистрацией продуктов взаимодействия – 2,4-динитрофенилгидразонов. Ход определения. В опытную пробу вносили 0,1 мл 10% гомогената ткани или плазмы и 0,1 мл 0,1М раствора 2,4-ДНФГ, в контрольную – 0,1 мл исследуемого образца и 0,1 мл 2М раствора HCl. Для осаждения белков в каждую пробу добавляли 20% раствор трихлоруксусной кислоты. Пробы инкубировали при комнатной температуре 1 час, затем центрифугировали при 3000 g в течение 15 мин. Далее осадок дважды промывали смесью (1:1) этилового спирта и этилацетата с целью устранения непрореагировавшего 2,4-ДНФГ и примесей липидов. Полученный осадок подсушивали на воздухе, а затем растворяли в 2,5 мл 8М раствора мочевины. Для лучшего растворения осадка добавляли 15 мкл 2М раствора HCl. Оптическую плотность 2,4-ДНФГ регистрировали спектрофотометрически при длине волны 270 и 370 нм. Расчет производился исходя из коэффициента молярной экстинкции динитрофенилгидразонов. Уровень карбонильных производных выражали в единицах оптической плотности, отнесенных на 1 г белка или мл плазмы.

Используя полученные значения, производили оценку резервно-адаптационного потенциала (РАП) белков, интегрального показателя антиоксидантной емкости белков в тестируемых образцах, по формуле: $РАП = 100 - (КБ \times 100) / КБ-МКО$, где КБ – карбонилированные белки, КБ-МКО = уровень металл-катализируемого окисления.

Определение железо-зависимого образования битирозина в плазме крови [8]. Принцип метода. В результате окисления остатков фенилаланина в молекулах белка образуется стабильный к влиянию протеаз битирозин, обладающий

характерной голубой флюоресценцией. Ход определения. В контрольную пробу вносили 0,95 мл фосфатного буфера и 50 мкл исследуемого образца. Опытная проба содержала 0,85 мл фосфатного буфера, 50 мкл исследуемого образца, 50 мкл смеси растворов сернокислого железа и ЭДТА (1:1), 50 мкл перекиси водорода. Контрольную и опытную пробы инкубировали 24 часа, после чего производят регистрацию флюоресценции при длине волны возбуждения 325 нм и длине волны испускания 415 нм. Результаты представляли в условных единицах, стандартизованных на 1 мг белка.

Определение активности СОД. Медь-цинкзависимая СОД (Cu/ZnSOD) определялась методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных тест-систем «RANSOD» фирмы «Randox Laboratories Ltd», Великобритания. За единицу активности СОД принимали то количество фермента, которое в оптимальных условиях вызывало 50% угнетение образования формазона при окислении хлорида 2-(4-йодофенил)-3-(4-нитрофенол)-5-фенилтетразолия супероксиданионом, который, в свою очередь, образуется при окислении ксантина ксантиоксидазой. Активность фермента выражали в ед/мг белка в пробе.

Определение активности каталазы проводили по методу Королюка М.А. (1988) [69]. Принцип метода основан на способности пероксида водорода образовывать с солями молибденовой кислоты стойкий окрашенный комплекс, насыщенность цвета которого снижается в присутствии каталазы. Активность фермента выражали при перерасчете на белок в мМ/мин·мг.

Содержание восстановленного глутатиона определяли по Patterson et al., в модификации Путилиной (1982) [98]. Принцип метода состоит в способности глутатиона образовывать с аллоксаном комплексное соединение с максимумом поглощения при длине волны 305 нм. Содержание восстановленного глутатиона прямо пропорционально количеству образовавшегося комплекса. Содержание выражали в мгмоль/г ткани.

Определение α -глутатион-S-трансферазы в плазме крови проводилось методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных диагностических наборов «Biotrin High Sensitivity Alpha GST EIA», фирмы «Biotrin»

(США). Принцип метода основан на последовательном добавлении исследуемого образца, ферментного конъюгата, конъюгированного с пероксидазой хрена, и субстрата в микроячейки планшета с сорбированной α GST. Интенсивность окраски прореагировавшего субстрата прямо пропорциональна концентрации α GST, присутствующей в образце. Активность фермента выражали в нг/л.

Определение активности глутатионпероксидазы. Для определения активности глутатионпероксидазы (ГПО) в плазме крови использовали наборы реагентов «Glutation Peroxidasa» фирмы «Randox Laboratories Ltd», Великобритания. Принцип метода состоит в окислении восстановленного глутатиона гидропероксидом кумина с участием ГПО. В присутствии глутатионредуктазы и НАДФН окисленный глутатион превращается в восстановленный с одновременным окислением НАДФН в НАДФ⁺. Уменьшение оптической плотности определяют при длине волны 340 нм. Расчет активности фермента производили в Ед/л.

Определение общей антиоксидантной активности крови (ОАА) проводили калориметрическим методом с помощью стандартного тест-набора «Total antioxidant status» фирмы «Randox Laboratories Ltd» (Великобритания). Принцип метода основан на подавлении развития окраски хромогена в тестируемой пробе пропорционально концентрации антиоксидантов, которые выражали в ммоль/л.

2.2.5. Морфологические методы исследования

Морфологию мозга изучали методом световой микроскопии окраской гематоксилином и эозином и толуидиновым синим. Морфометрия препаратов проводилась визуально-синкретическим (полуколичественным) методом [3], при котором при котором интенсивность повреждения ранжирована по баллам: 0 – отсутствие патологических изменений; 1 – слабая степень изменений; 2 – умеренно выраженные изменения; 3 – сильная выраженность изменений.

Степень альтерации астроглиальных клеток оценивали с помощью иммуногистохимического метода с диаминобензидин-детекцией антител к глиофибрил-

лярному кислому протеину (glial fibrillary acidic protein – GFAP), являющемуся специфическим маркером астроцитов [443]. Использовались поликлональные антитела к глиальному фибриллярному кислому белку GFAP (Cloud-Clone Corp. Wuhan, США). В качестве визуализирующей системы использовали полимерную систему UltraVision Quanto Detection System HRP DAB (Thermo Scientific, Fremont, CA, USA) по протоколу, рекомендованному производителем. Количественную оценку гистологических изменений проводили с использованием морфометрической программы ImageJ (NIH, США). Для измерения и подсчета иммунопозитивных клеток использовали сетку с размером ячеек 2000 мкм². Подсчитывали количество клеток на 1 мм² среза.

2.2.6. Статистические методы исследования

Статистическую обработку результатов проводили с использованием стандартного пакета программ Statistica 6.0. Описательная статистика данных проводилась в виде средней и среднеквадратичного отклонения $M \pm \sigma$. После проверки изучаемой выборки на нормальность распределения (критерий Шапиро-Уилкса) полученные данные обрабатывались вариационно-статистическим методом с использованием t-критерия Стьюдента. При отсутствии нормальности распределения статистическую значимость различий определяли, используя непараметрический критерий Манна-Уитни (U). Для выявления связи признаков использовали корреляционный анализ по Пирсону и Спирмену. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Глава 3. ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ФУНКЦИЙ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ПОСТРЕАНИМАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ОСТАНОВКИ СИСТЕМНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ЖИВОТНЫХ К ГИПОКСИИ

3.1. Особенности нейрофизиологических механизмов восстановления функций высшей нервной деятельности

Экспериментальная модель пережатия сосудисто-нервного пучка была выполнена на 661 крысе, из которых 376 были низкоустойчивыми, а 285 – высокоустойчивыми к гипоксии. В контрольных группах было по 30 крыс.

Среди высокоустойчивых особей доля успешно реанимированных была выше и составила 89,6% против 74,7% у низкоустойчивых. Таким образом, в группе ВУ крыс было реанимировано 255, а в группе НУ – 281 крыса.

По времени восстановления основных показателей жизнедеятельности высокоустойчивые животные так же опережали низкоустойчивых (рисунок 5).

Динамика восстановительных процессов в ЦНС, оцениваемая по интегральному показателю общего состояния крыс, у крыс с разной устойчивостью к гипоксии имела существенные различия (рисунок 6).

У животных с высокой интенсивностью кислородного метаболизма (НУ) неврологические нарушения были статистически достоверно более выраженными вплоть до 7-х суток восстановительного периода. Первые 3-4 часа после оживления животные находились в резко угнетенном состоянии, у некоторых из них отмечались клонические судороги, как правило, с последующей гибелью. Летальность в начальные часы после оживления составила 29,6% (21 крыса) от общего числа погибших в постреанимационном периоде животных (рисунок 7а). В последующие часы атония всех мышечных групп, отсутствие болевого рефлекса, неспособность к поддержанию температурного гомеостаза, индиффе-

рентность к воде и пище сохранялись, показатель общего состояния на отметке 6 часов составлял $80,12 \pm 7,12$ баллов.

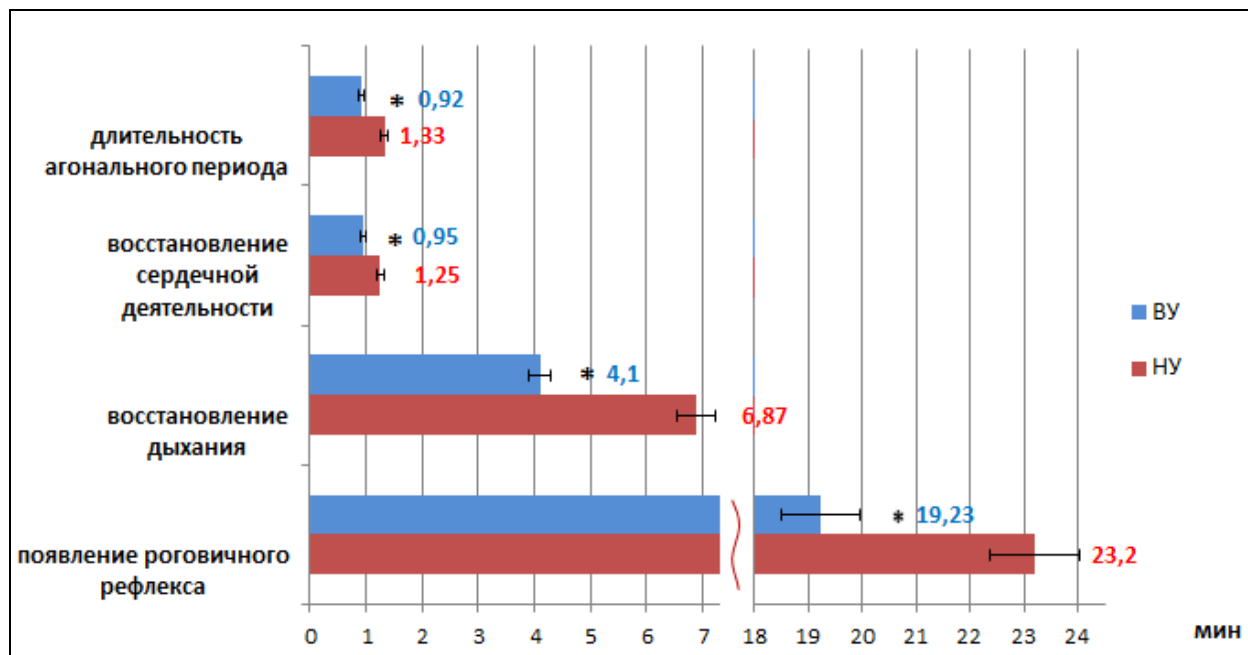


Рисунок 5 – Показатели жизнедеятельности крыс во время реанимации

Примечание: * $p \leq 0,05$ – статистически значимые различия между группами ВУ и НУ

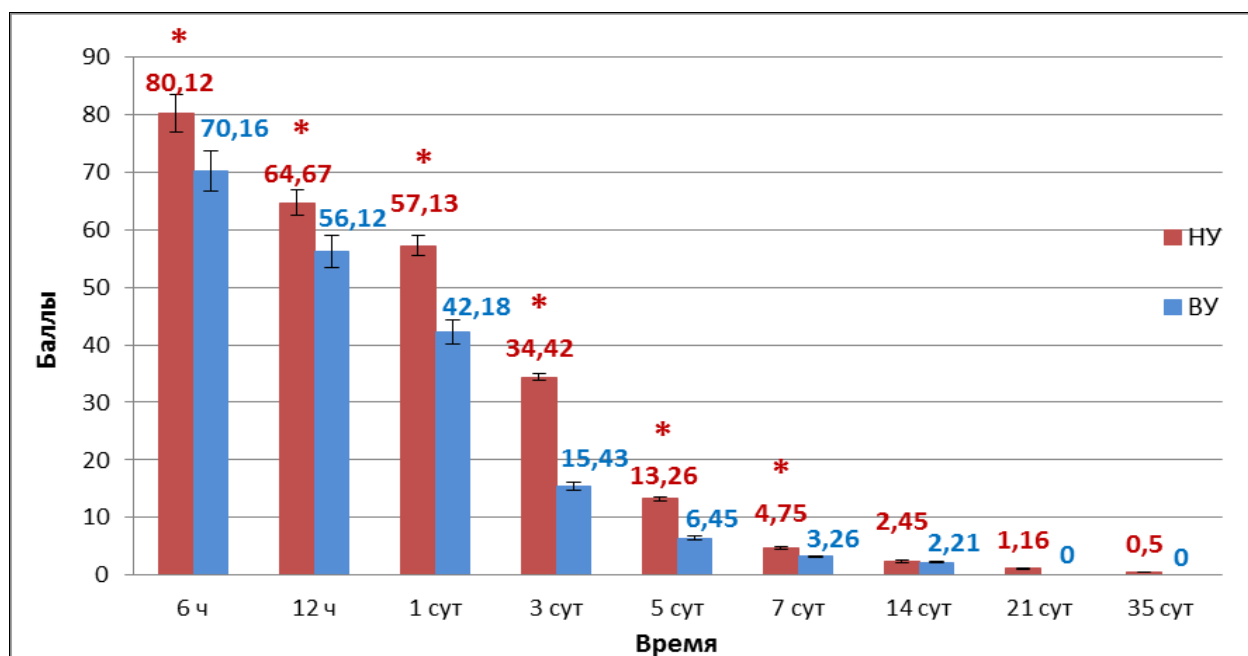
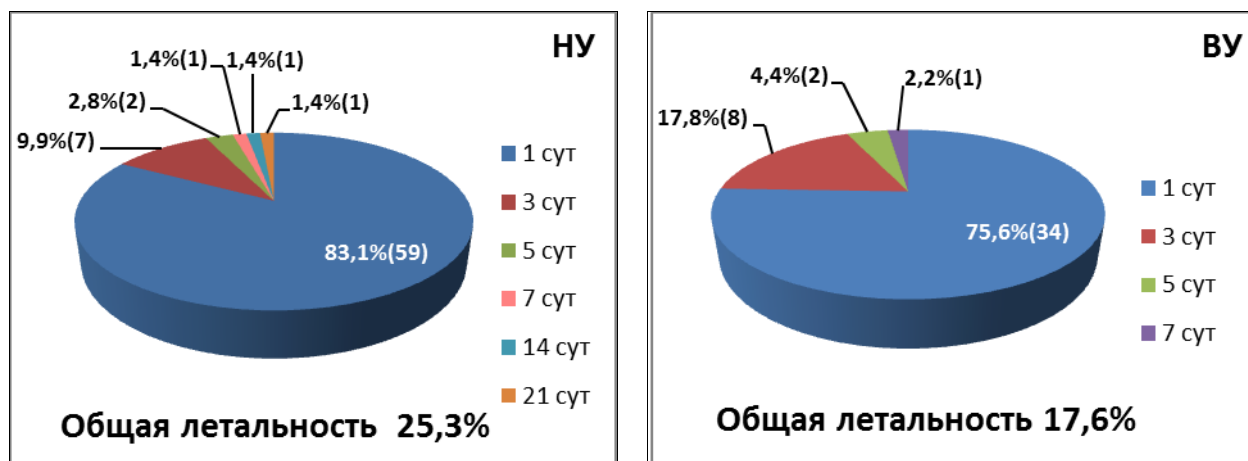


Рисунок 6 – Динамика показателя общего состояния крыс с разной устойчивостью к гипоксии в восстановительном периоде

Примечание: * $p \leq 0,05$ – статистически значимые различия между группами ВУ и НУ

При благоприятном течении постреанимационного периода к 12 часам наблюдения брадикардия сменялась тахикардией, животные начинали принимать воду. Значения суммарного неврологического дефицита снижались до $64,67 \pm 5,89$, а к концу первых суток наблюдения до $57,13 \pm 4,94$ баллов. В этот период пали еще 53,5% (38 крыс). Таким образом, летальность в первые сутки в этой группе составила 83,1% (рисунок 7а).



а)

б)

Рисунок 7 – Летальность в динамике восстановительного периода а) в группе низкоустойчивых, б) в группе высокоустойчивых к гипоксии крыс, в % к общему числу погибших животных

К концу вторых суток у большинства животных восстанавливалась адекватная реакция на болевой раздражитель, Крысы переворачивались, удерживали позу, но явления атаксии сохранялись. У части животных отмечалась неадекватная реакция на раздражители, в частности, нередко на звуковой или болевой раздражитель возникал приступ психомоторного возбуждения. После очередного приступа такие особи, как правило, погибали. Летальность в период 1-3-и сутки составила 9,9% от числа погибших (7 крыс) (рисунок 7а).

По истечении 7 суток НУ крысы практически не отличались от контрольных, тщательно выполняли гигиенические ритуалы, охотно принимали воду и пищу. Тем не менее, очаговые неврологические нарушения (мышечная гипотония или гипертония, выпадение отдельных рефлексов и пр.) выявлялись вплоть до 35-х суток наблюдения. Общая летальность в этой группе составила 25,3% (71

крыса) по отношению к числу оживших после реанимации животных (рисунок 7а).

Восстановительные процессы в ЦНС в раннем постреанимационном периоде у животных с исходно низкой интенсивностью кислородного метаболизма (ВУ) характеризовались более быстрой положительной динамикой (рисунок 6). Уже через 2 часа после реанимации ВУ крысы удерживали позу, через 2,5-3 часа пытались переворачиваться и ползать, но болевой рефлекс был значительно снижен. Спустя 6 часов после перенесенной гипоксии восстанавливался баланс терморегуляции, и клетку с животными переставали обогревать с помощью грелок. Показатель общего состояния составлял $70,16 \pm 7,29$, что было значительно ниже, чем в оппозитной группе. Через 9-10 часов животные начинали принимать воду. Далее неврологический дефицит быстро снижался, к 12 часу наблюдения его балльная оценка составляла $56,12 \pm 5,27$ (на 13,3% ниже в сравнении с группой НУ, $p \leq 0,05$). Восстановление болевого рефлекса происходило к концу первых суток эксперимента, показатель суммарного неврологического дефицита был на 26,4% ниже, чем в оппозитной группе ($42,18 \pm 4,74$, $p \leq 0,05$). Гипотония отдельных мышечных групп сохранялась на протяжении вторых суток наблюдения, что проявлялось в нарушении походки. К исходу вторых суток поведение опытных животных этой группы мало отличалось от контрольных, тем не менее, выпадения отдельных рефлексов фиксировались до 14-х суток наблюдения.

Летальность в постреанимационном периоде у ВУ была ниже и составила 17,6% (45 крыс) (рисунок 7б). Самый высокий уровень летальности, так же как и в группе сравнения, приходился на первые 6 часов постреанимационного периода (рисунок 7б). В группе ВУ доля крыс, погибших в первые часы, составила 28,9% (13), еще 46,7% (21) умерло к концу первых суток.

Следует подчеркнуть, что летальность среди НУ особей имела место на протяжении практически всего восстановительного периода. Случаи летальных исходов в группе ВУ крыс приходились на первую неделю постреанимационного периода.

Для изучения изменения поведенческих реакций в зависимости от устойчивости к гипоксии после моделирования 5-минутной остановки системного кровообращения были исследованы реакции на новизну в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт».

Оценка поведенческих реакций в тесте «открытое поле». Тест позволяет изучать поведение животных в новой, и, следовательно, потенциально опасной среде и оценивать выраженность и динамику отдельных поведенческих элементов, уровень эмоционально-поведенческой реактивности (число пересеченных квадратов, количество болюсов дефекации, расчетные показатели), стратегию исследовательского поведения, привыкание, симптомы неврологического дефицита [21]. Для решения задач нашего исследования мы использовали модификацию теста ОП с оценкой интегральных расчетных показателей, являющихся более чувствительными, чем отдельные поведенческие паттерны: ориентировочно-исследовательскую активность (ОИА) оценивали по сумме паттернов «обнюхивание», «перемещение», «норка» [10], эмоциональную тревожность (ЭТ) по сумме паттернов «движение на месте», «вертикальная стойка» и «стойка с упором» [107].

Результаты исследования в ОП контрольных животных показали, что в первые минуты тестирования воздействие необычных эмоциогенных факторов вызывало преобладание реакций замирания. Далее был переход в поведение патруливания с активацией горизонтальной локомоции и исследовательских паттернов (таблица 4). Но, несмотря на общую схожесть поведенческих реакций, были выявлены статистически значимые различия по ряду показателей в контрольных группах животных с разной устойчивостью к гипоксии, что укладывается в логику теории адаптационных стратегий, согласно которой высокоустойчивые крысы склонны к пассивному восприятию действия раздражителя (толерантная стратегия), а низкоустойчивые к активному преодолению действия патогенного фактора (резистентная стратегия) [174].

Контрольные ВУ крысы демонстрировали достоверно меньшие показатели ОИА, горизонтальной двигательной активности (ГДА) по количеству пере-

сеченных квадратов (таблица 4). Для НУ животных контрольной группы были характерны статистически значимо более высокие показатели ЭТ и анксиогенной дефекации, что свидетельствует о большем уровне их эмоциональной тревожности по сравнению с ВУ.

Таблица 4 – Объем и структура паттернов поведения крыс с разной устойчивостью к гипоксии по тесту «открытое поле» в динамике восстановительного периода после остановки системного кровообращения, $M \pm \sigma$, усл. ед.

[illegible]

Остановка системного кровообращения длительностью 5 минут вызвала значительные нарушения процессов высшей нервной деятельности животных, проявления которых зависели от устойчивости к гипоксии.

В первые сутки ориентировочно-исследовательская активность обеих групп крыс характеризовалась значительным угнетением практически всех компонентов. ГДА у НУ крыс снижалась на 60%, ОИА на 38%, у ВУ соответственно на 43,6% и 29% ($p \leq 0,05$). В обеих группах в несколько раз снижался интегральный показатель эмоциональной тревожности. Количество актов груминга у низкоустойчивых к гипоксии особей значимо сокращалось, а у высокоустойчивых не имело достоверных различий с контролем, при том, что характер его был незавершенным.

Анализ паттернов поведения свидетельствовал о трудностях построения адекватной формы реагирования, особенно у НУ животных. Резкое снижение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности значительно затрудняет получение полезного результата (избегание опасности), достигаемого в ходе реализации генетически детерминированной резистентной стратегии адаптации.

Начиная с третьих суток, отмечалось повышение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности в обеих группах (таблица 4): у ВУ крыс в большей степени усиливалась ОИА, у НУ – увеличивалась ГДА. Горизонтальная двигательная активность ВУ животных своих максимальных значений (244% от уровня контроля, $p \leq 0,05$) достигла на 7 сутки, параллельно росла и ОИА (193%, $p \leq 0,05$). К концу эксперимента ГДА возвращалась к исходным значениям, а уровень ОИА оставался повышенным ($p \leq 0,05$). Резкий статистически значимый рост двигательной активности НУ животных (в 2,4 раза), зафиксированный на третьи сутки, сохранился и в последующие периоды наблюдения: 5-е сутки (в 3,2 раза), 7-е сутки (в 3,7 раза), 14-е сутки (в 3,3 раза), что наряду с ростом анксиогенной дефекации свидетельствует о готовности к реализации резистентной стратегии адаптации [117].

Поведение крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»

Приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) предназначен для изучения поведения лабораторных животных в условиях переменной стрессогенности (при свободном выборе условий), что дает возможность уменьшить действие внешнего стимула путем пребывания в более комфортных закрытых рукавах [428]. Тест позволяет оценить уровень тревожности животного (по предпочтению темноты или света, боязни высоты, выраженности и динамике поведения "выглядывания"), что используется для оценки анксиолитического действия препаратов [132].

Модификация ПКЛ, выполненная в исследовании, не предполагала оценки ОИА и локомоторной активности, поскольку был тест ОП, позволяющий это сделать. Основной целью его проведения была оценка уровня тревожности животных.

Полученные результаты свидетельствуют, что контрольные ВУ животные характеризуются пониженной, в сравнении с НУ, тревожностью. Это демонстрируют статистически значимые различия в длительности нахождения в открытых рукавах (9% от общего времени сеанса у ВУ против 2% в оппозитной группе), закрытых рукавах (89% у ВУ против 96% у НУ), в количестве свешиваний с открытых рукавов (в 2 раза выше, чем у НУ) и болюсов дефекации (таблица 5).

В первые сутки после перенесенного критического состояния в тесте ПКЛ в обеих группах животных наблюдалось резкое статистически значимое увеличение времени пребывания в открытых рукавах – с 2 до 56% общего времени сеанса у НУ крыс, с 9 до 35% у ВУ, что свидетельствует о выраженной дизрегуляции процессов высшей нервной деятельности на фоне гипоксического повреждения ЦНС [43].

Начиная с третьих суток длительность пребывания в некомфортных открытых рукавах уменьшилась в обеих группах, но у НУ животных этот показатель значительно превысил контрольные цифры, в то время как у ВУ, напротив, оказался значимо ниже. Повышенный уровень эмоциональной тревожности у

ВУ крыс, регистрирующийся как по показателю времени пребывания в закрытых рукавах, количеству свешиваний с открытых рукавов, так и по количеству актов незавершенного груминга и дефекации сохранялся до окончания периода наблюдения. Эти же нейроэтологические показатели у НУ животных свидетельствовали о подавлении эмоциональной составляющей поведенческих реакций.

Таблица 5 – Паттерны поведения крыс с разной устойчивостью к гипоксии по тесту «приподнятый крестообразный лабиринт» в динамике восстановительного периода после остановки системного кровообращения, $M \pm \sigma$, усл. ед.

[illegible]

Эти данные (как в контроле, так и в опыте) согласуются с результатами, полученными в ОП (расчетный показатель ЭТ, число пересеченных квадратов, дефекация).

Обращает на себя внимание тот факт, что в обоих тестах у ВУ особенно значительно, по сравнению с НУ, повышался уровень эмоциональной тревожности. Рост тревожности некоторые авторы рассматривают как адаптивную реакцию организма, позволяющую осуществить необходимую мобилизацию ресурсов [142]. Если перенесенную гипоксию рассматривать как стресс, то очевидно, что увеличение выброса глюкокортикоидов будет сопровождаться повышением тревожности, так как известно, что глюкокортикоиды могут усиливать выработку экстрагипоталамического кортиколиберина, являющегося основным медиатором тревожности [226].

Таким образом, ориентировочно-исследовательская деятельность НУ крыс в 1-е сутки постреанимационного периода после перенесенной остановки системного кровообращения характеризовалась значительным угнетением ее активных компонентов и нарушением реакции на новизну. Резкий скачок двигательной активности в последующие дни наряду с ростом анксиогенной дефекации демонстрировал готовность к реализации резистентной стратегии адаптации. Изменение паттернов поведения в группе ВУ крыс свидетельствовало о процессах дезадаптации, развивающихся в первые сутки после клинической смерти и сменяющихся адаптивными изменениями в поведенческих реакциях, важную роль в которых играют повышение эмоциональной тревожности и ориентировочно-исследовательской деятельности.

3.2. Особенности морфологических изменений в коре головного мозга

Мозг, потребляющий около четверти кислородного бюджета организма, имеет довольно редкую капиллярную сеть. Способом срочного приспособления к недостатку кислорода в результате гипоксемии или анемии является ускорение капиллярного кровотока, причем уменьшается число капилляров с очень низкой скоростью кровотока и увеличивается число капилляров с более высокой скоростью кровотока. Однако даже двукратный прирост скорости капиллярного кровотока в условиях тяжелой гипоксии не компенсирует недостаток кислорода, что делает мозг чрезвычайно уязвимым к его действию [55]. Последствия циркуляторной ишемии мозга, степень ее повреждающего действия зависят от степени тяжести и длительности снижения церебральной гемодинамики [92; 149].

Известно, что без нормальной деятельности астроглиальной стромы, невозможно полноценное функционирование нейронов головного мозга. Глиальный фибриллярный кислый протеин (GFAP – от англ. glial fibrillary acid protein) экспрессируется в центральной нервной системе в клетках астроцитов и является важнейшим структурным компонентом астроглии [280]. Этот высокоспецифичный белок головного мозга, не обнаруживаемый за пределами ЦНС, представляет собой основной промежуточный филамент в зрелых астроцитах центральной нервной системы [72].

GFAP участвует во многих важных процессах ЦНС, включая межклеточную коммуникацию и функционирование гематоэнцефалического барьера. Этот нейропептид играет роль в митозе, регулируя нейрофиламентную сеть в клетке, что чрезвычайно важно при повреждениях мозга любого генеза.

Поскольку мозговая катастрофа любого генеза сопровождается изменением экспрессии GFAP, коррелирующей со степенью повреждения мозговой ткани, в связи с чем содержание нейропептида может являться прогностическим критерием и маркером исхода патологического процесса в ЦНС [72; 434], ло-

гично было предположить, что у животных с разным фенотипом устойчивости к гипоксии выраженность экспрессии этого белка будет различаться.

Нами было проведено сравнительное исследование гистологической картины коры головного мозга крыс высокоустойчивых и низкоустойчивых к гипоксии методом световой микроскопии с окраской препаратов гематоксилином и эозином и толуидиновым синим, а также визуализацией клеток нейроглии иммуногистохимически методом с антителами к GFAP в следующие временные интервалы: острый период – 1-7 сутки; подострый период – 14-21 сутки; хронический период – 35 суток¹.

За норму была взята гистологическая картина коры головного мозга контрольных крыс, выведенных из эксперимента стандартным путём. Молекулярный слой серого вещества коры больших полушарий представлен ветвлениями нейрофиламентов из дендритов пирамидных клеток, единичными мелкими горизонтальными нейроцитами, а также кровеносными сосудами мелкого калибра. Наружный зернистый слой представлен слоем малых и средних пирамидных нейроцитов, дендриты которых уходят в молекулярный слой, а аксоны проникают в лежащие глубже слои и в белое вещество (рисунок 8а). Слой крупных пирамидных клеток состоит из пирамидных нейроцитов большей величины от 10 до 40 мкм (рисунок 8б). Внутренний зернистый и ганглионарный слои коры детально не оценивались, так как их характеристика зависит от зональной топографии. Слой полиморфных клеток образован, в основном, мелкими редко лежащими веретеновидными нервными клетками.

Клетки нейроглии, визуализированные иммуногистохимическим методом с помощью антител к GFAP, характеризовались мелкими размерами, имели паутиновидную форму с равномерным распределением в слоях коры головного мозга (рисунок 8в).

¹ Морфологический раздел работы выполнен совместно со специалистами отдела морфологии ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздрава России.

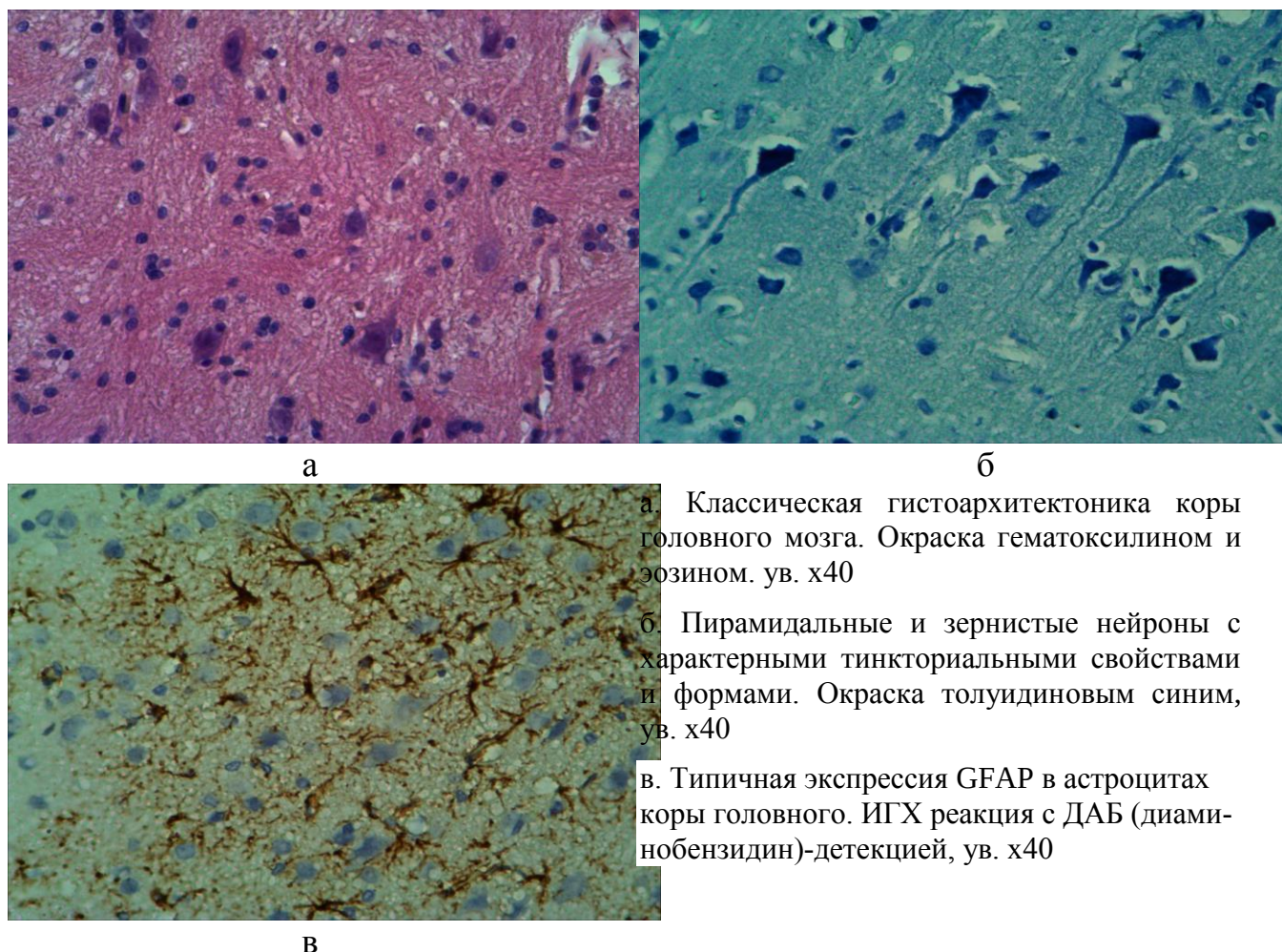


Рисунок 8 – Гистологическая картина коры головного мозга крыс контрольной группы

Патогистологические изменения в коре головного мозга на 1-3 сутки эксперимента

У крыс с высокой степенью устойчивости к гипоксии в наружном зернистом слое коры наблюдали слабо выраженное нарушение цитоархитектоники нейронов (рисунок 9а) с полнокровием в капиллярах. В слое крупных пирамидных клеток дистрофические клеточные изменения также были слабо выражены и обусловлены преимущественно внутриклеточной гидропической дистрофией (рисунок 9б). Умеренная экспрессия GFAP в астроцитах коры головного мозга характеризовалась клеточной плотностью, соответствующей норме, однако ветвистость нейрофиламентов была несколько снижена (рисунок 9в).

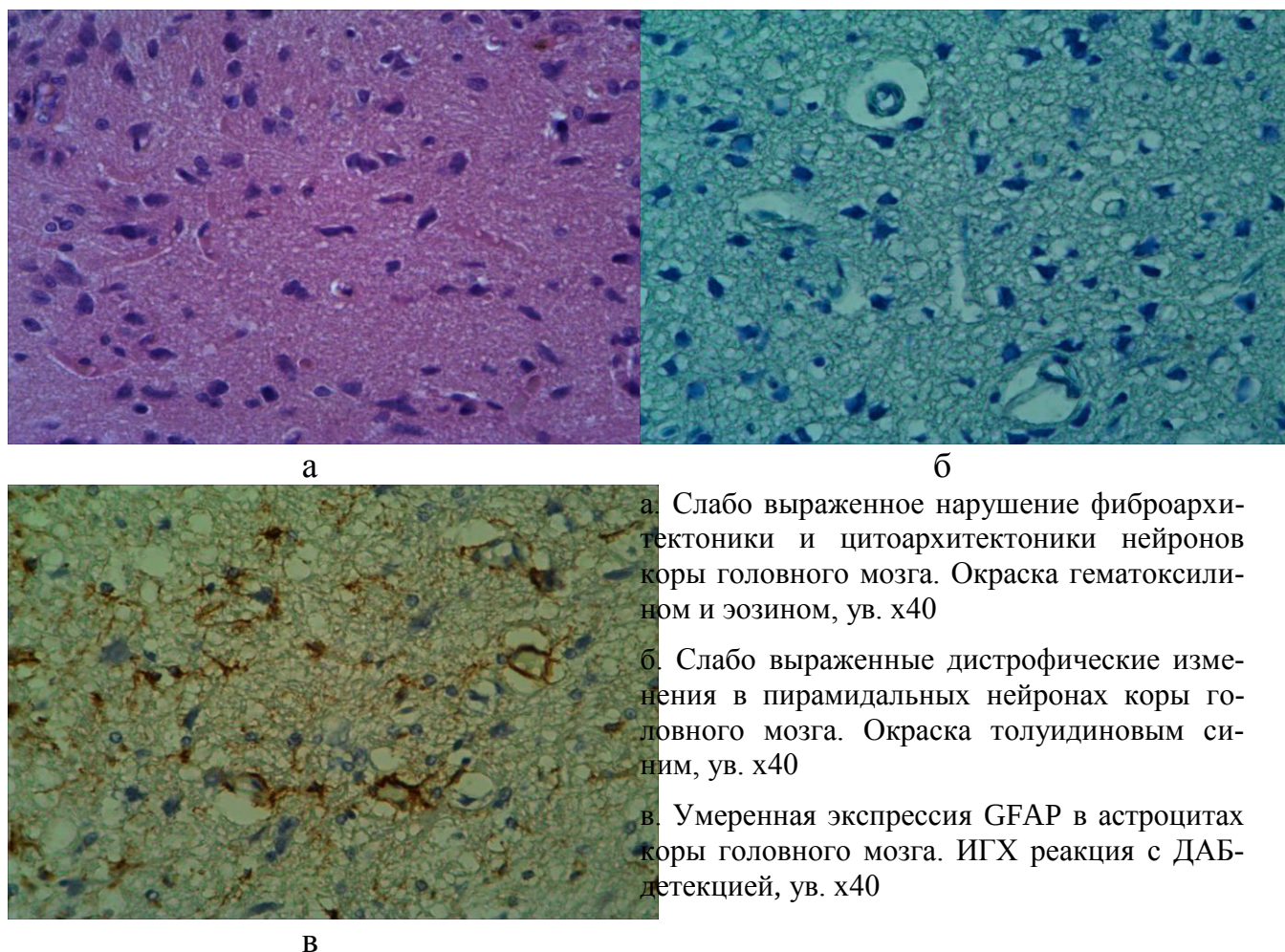


Рисунок 9 – Патогистологические изменения в коре головного мозга на 1-3 сутки эксперимента крыс с высокой устойчивостью к гипоксии

У крыс с низкой степенью устойчивости к гипоксии в слое крупных пирамидных клеток коры головного мозга наблюдали выраженное снижение плотности клеток нейроглии с нарушением фиброархитектоники, в первую очередь, за счёт межуточного отёка (рисунок 10а). В самих пирамидальных нейронах коры отмечались выраженные дистрофические изменения, которые характеризовались снижением тинкториальных свойств, сглаживанием цитоплазматических и ядерных контуров (рисунок 10б). В астроцитах выявлялась слабая экспрессия GFAP, также за счёт снижения их клеточной плотности (рисунок 10в). Изменения микроциркуляторного русла включали в себя периваскулярный отёк, неравномерное кровенаполнение с преимущественным запустеванием в просвете капилляров.

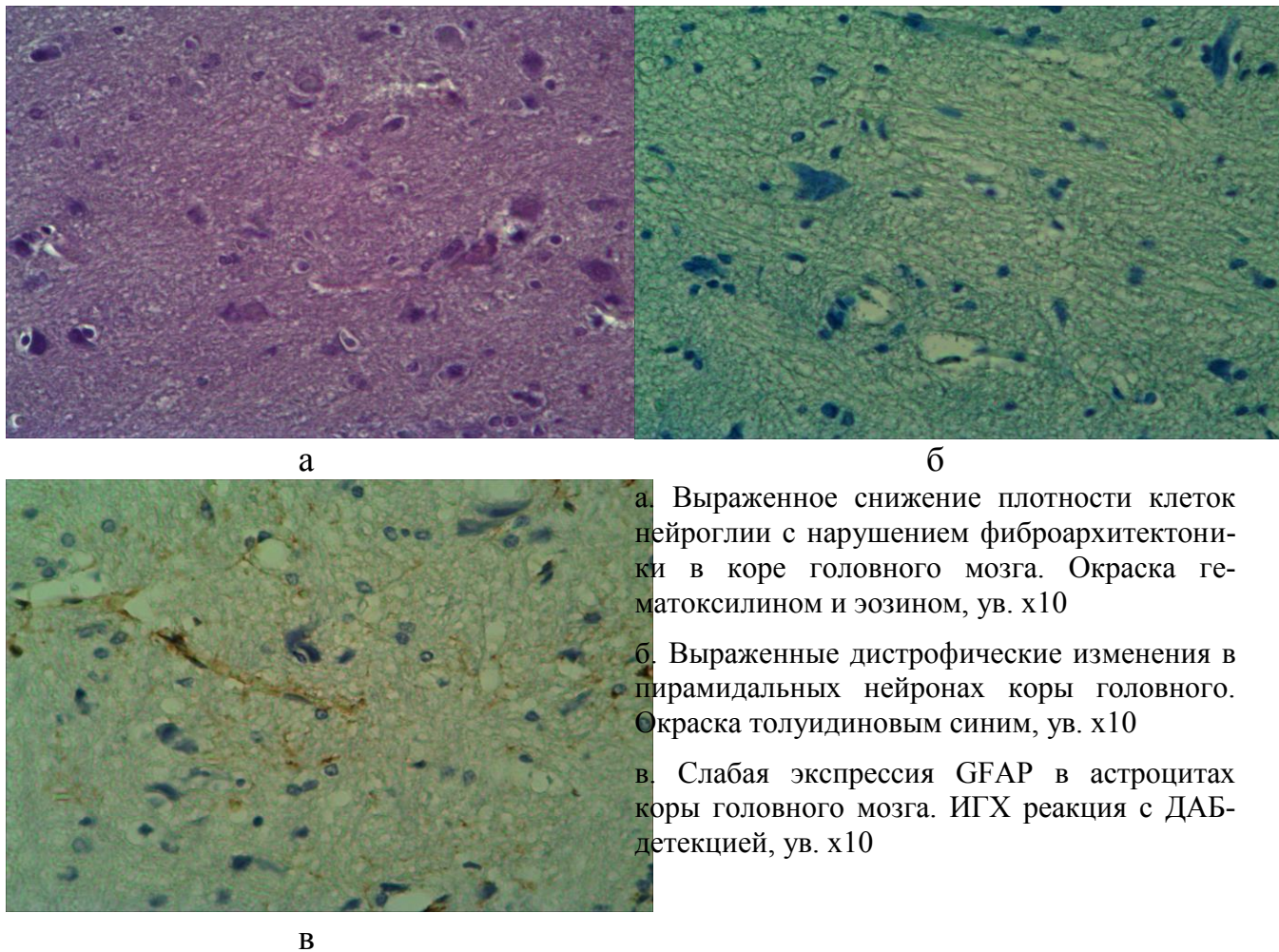


Рисунок 10 – Патогистологические изменения в коре головного мозга на 1-3 сутки эксперимента крыс с низкой устойчивостью к гипоксии

Патогистологические изменения в коре головного мозга на 5-7 сутки эксперимента

У крыс с высокой степенью устойчивости к гипоксии в продолжении острого периода различные патогистологические признаки остаются преимущественно слабовыраженными. Это характерно как для фиброархитектоники, так и для цитоархитектоники нейронов коры головного мозга, клеточная плотность незначительно отличается от контроля (рисунок 11а). Отмечается некоторое утолщение молекулярного слоя в результате межуточного отека. В нейронах пирамидального и зернистого слоёв коры в некоторых ядрах отмечается вакуолизация, с незначительным сглаживанием контуров цитоплазмы, что можно отнести к дистрофическим изменениям слабой степени выраженности (рисунок

116). Экспрессия GFAP в астроцитах коры не отличалась в сравнении с 1-3 сутками эксперимента.

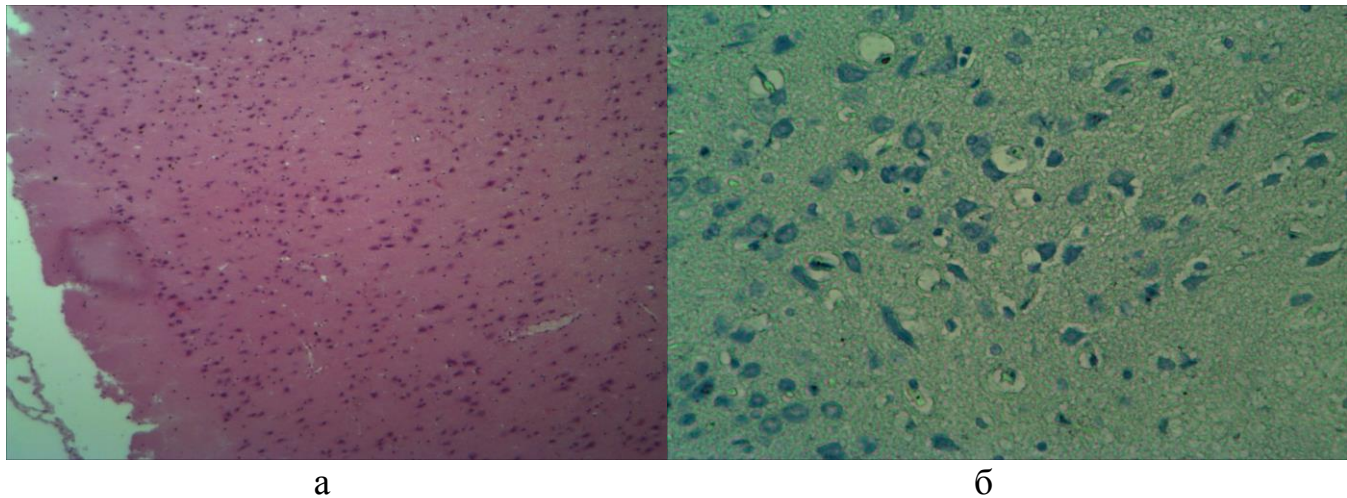


Рисунок 11 – Патогистологические изменения в коре головного мозга на 5-7 сутки эксперимента крыс с высокой устойчивостью к гипоксии

а. Слабо выраженное нарушение фиброархитектоники и цитоархитектоники нейронов коры головного мозга. Окраска гематоксилином и эозином, ув. x10

б. Слабо выраженные дистрофические изменения в нейронах пирамидального и зернистого слоёв коры головного мозга. Окраска толудиновым синим, ув. x40

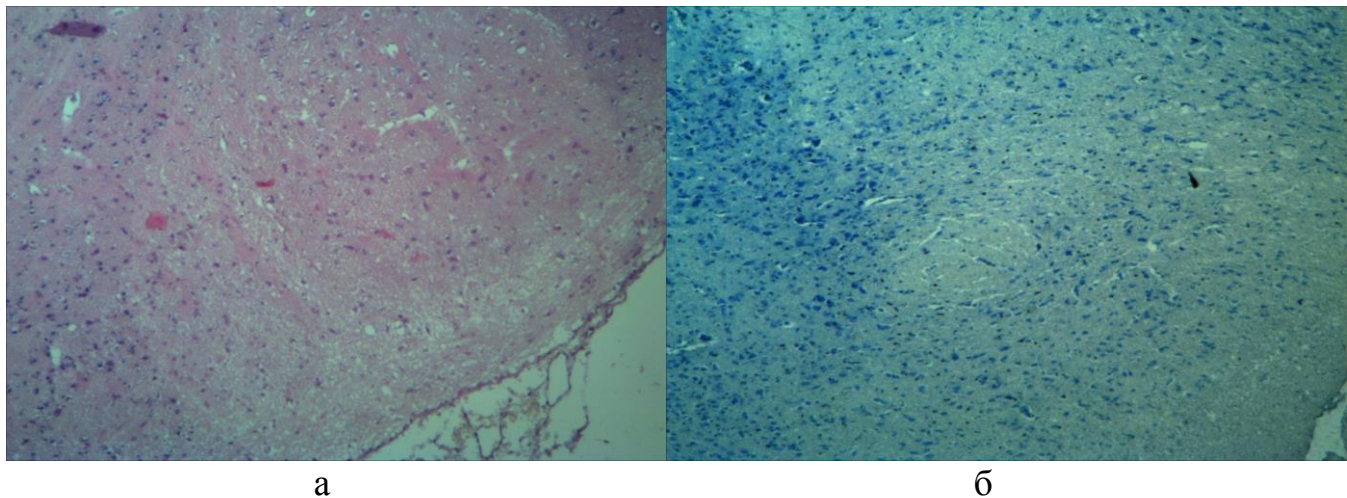


Рисунок 12 – Патогистологические изменения в коре головного мозга на 5-7 сутки эксперимента крыс с низкой устойчивостью к гипоксии

а. Очаговые дегенеративные изменения в коре головного мозга крыс в группе с низкой устойчивостью к гипоксии, 5-7 сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином, ув. x10

б. Выраженная дезинтеграция в цитоархитектонике слоев нейронов коры головного мозга крыс в группе с низкой устойчивости к гипоксии, 5-7 сутки эксперимента. Окраска толудиновым синим, ув. x10

У крыс с низкой степенью устойчивости к гипоксии обнаруживались очаговые дегенеративные изменения в коре головного мозга, характеризующиеся появлением аморфных эозинофильных масс и снижением плотности клеток нейроглии (рисунок 12а). Кроме того, отмечали выраженную дезинтеграцию в цитоархитектонике слоев нейронов коры с потерей стратификации, а также изменение их тинкториальных свойств (рисунок 12б). В астроцитах выявлялась слабая экспрессия GFAP, как непосредственно по интенсивности реакции, так и опосредованно в результате снижения их клеточной плотности.

Патогистологические изменения в коре головного мозга на 14-21 сутки эксперимента

У крыс с высокой степенью устойчивости к гипоксии в подостром периоде отмечалась дискордантность патогистологических изменений, внеклеточные изменения были более значимо выражены по сравнению с внутриклеточными. В слоях коры головного мозга наблюдали умеренно выраженный межклеточный отёк, обусловивший утолщение всех слоёв коры и соответствующие изменения в фиброархитектонике (рисунок 13а). В то же время, дистрофические изменения были слабо выражены в пирамидальных и зернистых нейронах (рисунок 13б). Напротив, в астроцитах коры головного мозга была выявлена компенсаторная гиперэкспрессия GFAP (рисунок 13в).

У крыс с низкой степенью устойчивости к гипоксии в подостром периоде отмечались выраженные диффузно-очаговые нарушения фибро- и цитоархитектоники, преимущественно в молекулярном и наружном зернистом слоях коры головного мозга (рисунок 14а). Умеренно выраженные дистрофические изменения в пирамидальных и зернистых нейронах коры наблюдали преимущественно в участках нарушения микроциркуляции (рисунок 14б). В астроцитах по-прежнему сохранялась гипоекспрессия GFAP, что свидетельствует о выраженных нарушениях в нейроглии (рисунок 14в).

На 21 сутки эксперимента у крыс с высокой степенью устойчивости к гипоксии отёчно-дистрофические изменения просматривались гораздо более отчетливо по сравнению с более ранними сроками. Наблюдался умеренно выра-

женный внутриклеточный и межуточный отек (рисунок 15а). На фоне отечных изменений в пирамидальных нейронах отмечались умеренно выраженные дистрофические изменения, которые характеризовались сглаженностью цитоплазматических контуров и ослаблением тинкториальных свойств ядер нейронов (рисунок 15б). В просветах сосудов микроциркуляторного русла определялось неравномерное кровенаполнение. Сохранялась умеренная экспрессия GFAP в астроцитах коры головного мозга при незначительном снижении их плотности.

У крыс с низкой степенью устойчивости к гипоксии в коре головного мозга отмечается значительное нарушение фиброархитектоники в результате выраженного межуточного отека и нарушений в микроциркуляторном русле, с признаками стаза и тромбоза в просветах сосудов (рисунок 16а).

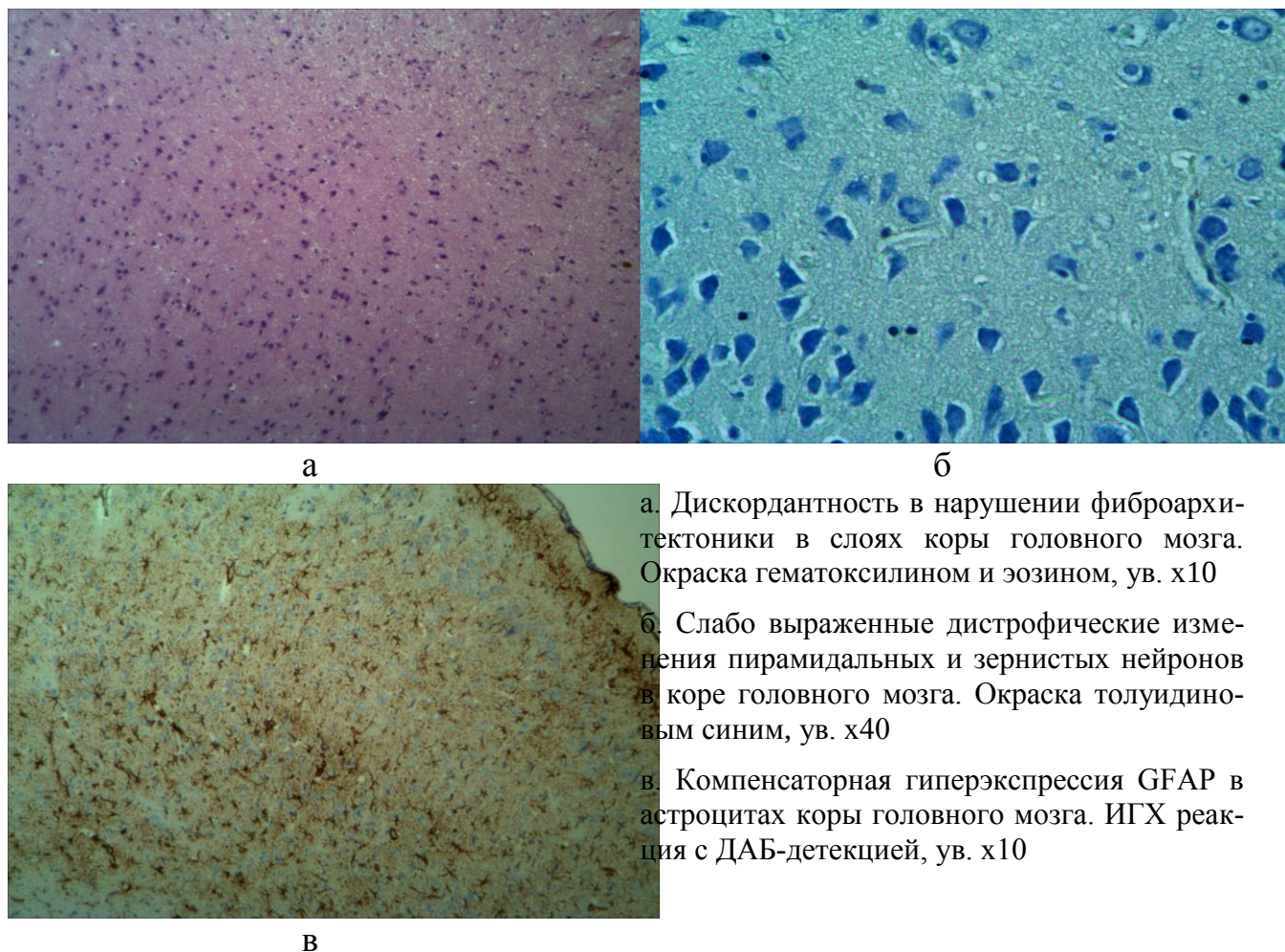
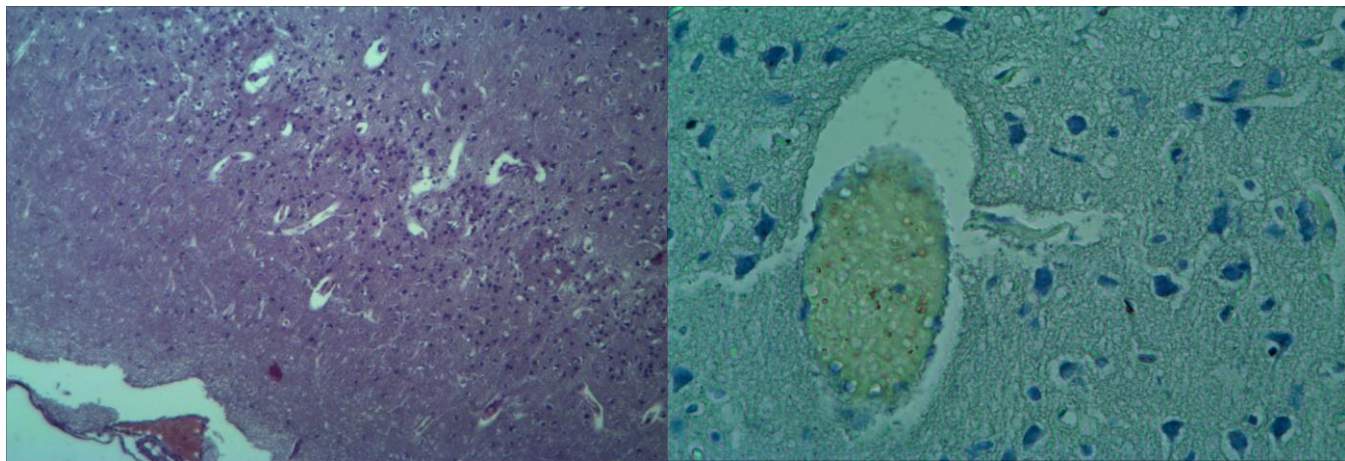
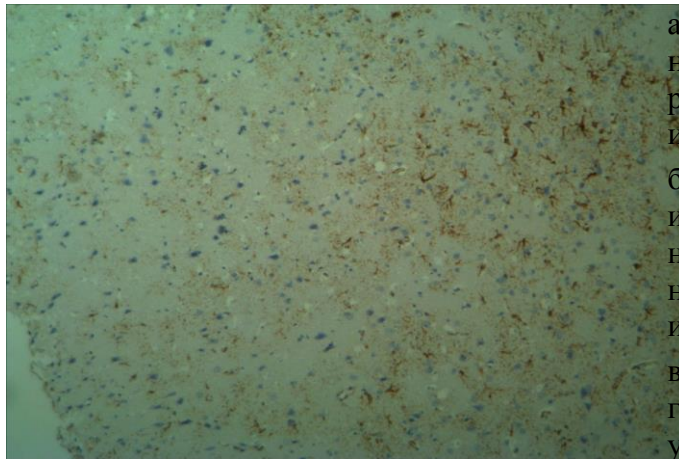


Рисунок 13 – Патогистологические изменения в коре головного мозга на 14-е сутки эксперимента у крыс с высокой устойчивостью к гипоксии



а

б



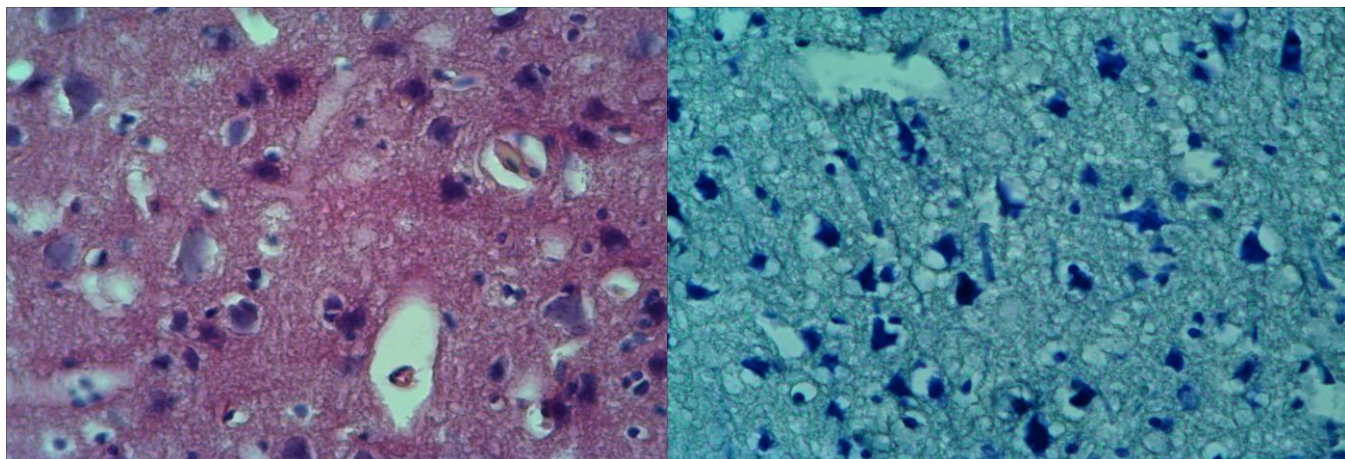
а. Выраженные диффузно-очаговые нарушения фибро- и цитоархитектоники в слоях коры головного мозга. Окраска гематоксилином и эозином, ув. x10

б. Умеренно выраженные дистрофические изменения пирамидальных и зернистых нейронов в коре головного мозга на фоне нарушения микроциркуляции. Окраска толуидиновым синим, ув. x40

в. Гипоэкспрессия GFAP в астроцитах коры головного. ИГХ реакция с ДАБ-детекцией, ув. x10

в

Рисунок 14 – Патогистологические изменения в коре головного мозга на 14-е сутки эксперимента у крыс с низкой устойчивостью к гипоксии

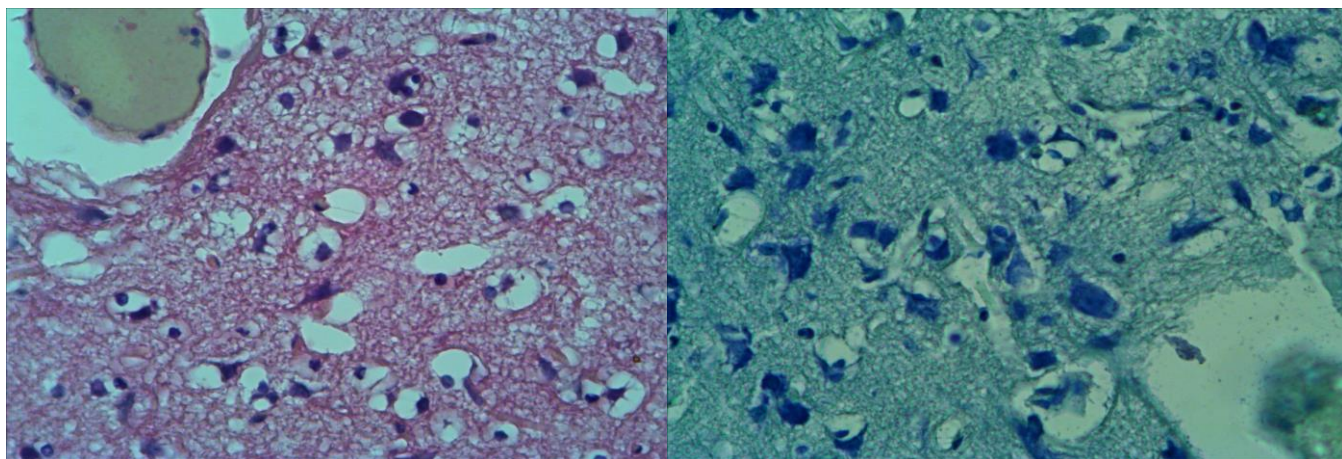


а

б

Рисунок 15 – Патогистологические изменения в коре головного мозга на 21-е сутки эксперимента у крыс с высокой устойчивостью к гипоксии

а. Перикаллярный отек в слое пирамидальных нейронов, выраженные дистрофические изменения пирамидальных нейронов на фоне межуточного отека. Окраска гематоксилином и эозином, ув. x40; б. Умеренно выраженные дистрофические изменения пирамидальных нейронов на фоне межуточного отека. Окраска толуидиновым синим, ув. x40



а

б

Рисунок 16 – Патогистологические изменения в коре головного мозга на 21-е сутки эксперимента у крыс с низкой устойчивостью к гипоксии

а. Выраженный межуточный отек на фоне нарушения микроциркуляции с редукцией нейронов в коре головного мозга. Окраска гематоксилином и эозином, ув. х40

б. Выраженные дистрофические изменения пирамидальных нейронов с редукцией глиальных клеток в коре головного мозга. Окраска толуидиновым синим, ув. х40

В слое пирамидальных нейронов наблюдается нарушение стратификации со снижением клеточной плотности. Внутриклеточные изменения характеризуются выраженной вакуолизацией в цитоплазме нейронов, изменением формы и тинкториальных свойств в их ядрах (рисунок 16б). Плотность астроцитов также заметно снижена при умеренной экспрессии GFAP.

Патогистологические изменения в коре головного мозга на 35-е сутки эксперимента

У крыс с высокой степенью устойчивости к гипоксии в хронический период эксперимента наблюдается восстановление фибро- и citoархитектоники в гистологическом строении коры головного мозга (рисунок 17). Фиксировалось упорядоченное направление нейрофиламентов в зависимости от слоя коры, а также клеточная плотность нейронов приближалась к контрольной группе (рисунок 17а). При окраске толуидиновым синим в нейронах отмечали классическую пирамидальную форму, с относительно равномерным распределением красителя, а также отсутствовала внутриклеточная вакуолизация (рисунок 17б). Астроциты имели выраженную экспрессию GFAP и характеризовались мелкими

размерами, паутиновидной формой с равномерным расположением в слоях коры головного мозга. В микроциркуляторном русле нарушения не отмечались (рисунок 17в).

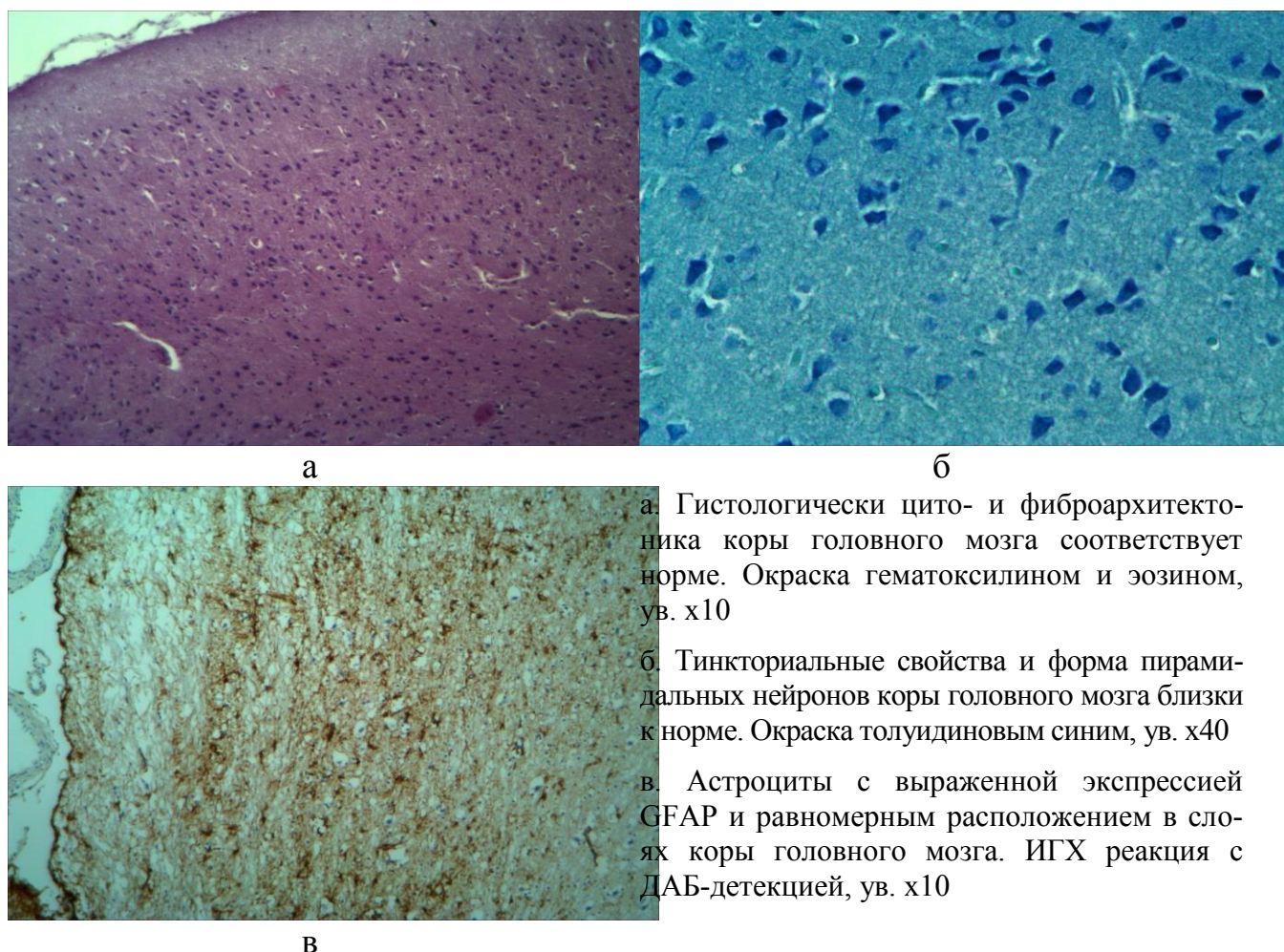


Рисунок 17 – Патогистологические изменения в коре головного мозга крыс с высокой устойчивостью к гипоксии на 35-е сутки эксперимента

У крыс с низкой степенью устойчивости к гипоксии в хронический период эксперимента наблюдали стойкие патогистологические изменения. Значительно снижена клеточная плотность нейронов и в меньшей степени клеток нейроглии с нарушением формирования слоев (рисунок 18а). Большинство нейронов имеет неправильную форму, с неравномерным распределением красителя толуидинового синего, от гипо- до гиперхромии в различных нейронах, контуры ядер нечёткие (рисунок 18б). На фоне сохраняющихся изменений в сосудах микроциркуляторного русла наблюдается выраженный межуточный отёк.

В астроцитах преимущественно выявляется слабая экспрессия GFAP (рисунок 18в).

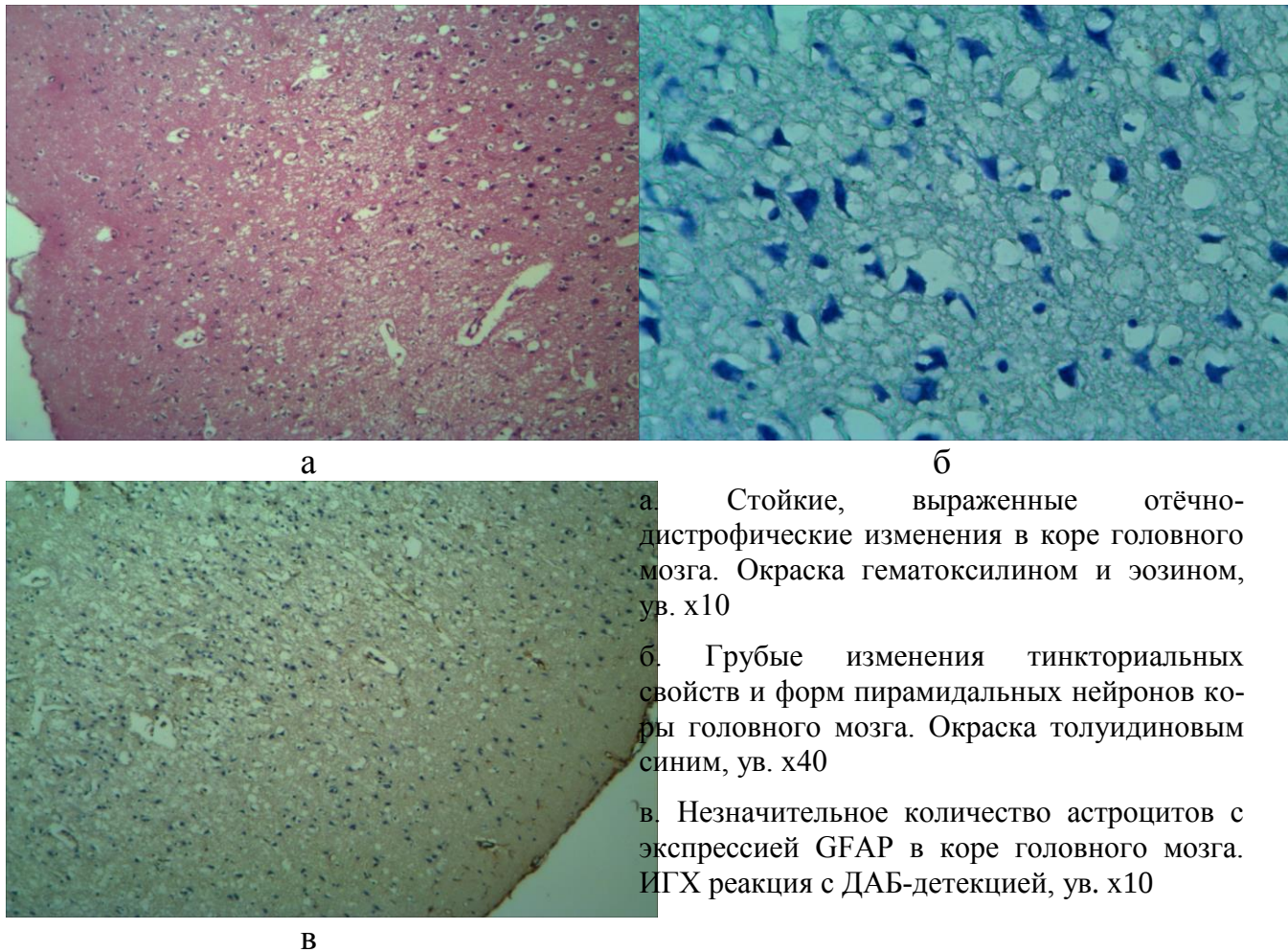


Рисунок 18 – Патогистологические изменения в коре головного мозга крыс с низкой устойчивостью к гипоксии на 35-е сутки эксперимента

Таким образом, патогистологические изменения в коре головного мозга в обеих экспериментальных группах носили волнообразный характер и зависели от сроков постгипоксического периода. В группе животных с низкой устойчивостью к гипоксии сроки восстановления были сдвинуты на более поздние.

Анализ зависимости интенсивности повреждения в коре мозга от продолжительности эксперимента и степени устойчивости к гипоксии (рисунок 19) показал, что высокая устойчивость характеризовалась слабой выраженностью гистологических изменений в коре головного мозга, в то время как низкая на гистологическом уровне сопровождалась преимущественно умеренными изменениями.

ми. Кроме того, патологические сдвиги в обеих опытных группах животных происходили синхронно, и максимальная интенсивность гистологических нарушений отмечалась на 14-е и 21-е сутки, то есть в подострый период. Межгрупповые различия были статистически значимы во все контрольные сроки эксперимента ($p < 0,05$).

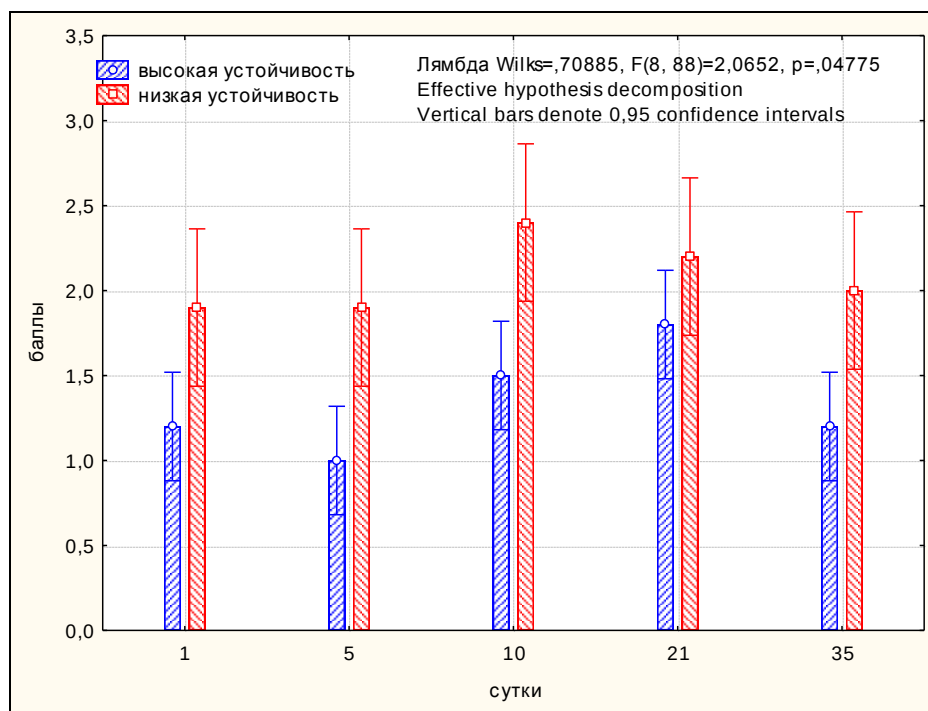


Рисунок 19 – Динамика интенсивности повреждения в коре мозга в зависимости от устойчивости к гипоксии

Примечание: Интенсивность повреждения ранжирована по баллам: 0 – отсутствие патологических изменений; 1 – слабая степень изменений; 2 – умеренно выраженные изменения; 3 – сильная выраженность изменений

Для объективизации сравнительного анализа структурные изменения в коре головного мозга крыс с разной устойчивостью к гипоксии были разделены на гистологические категории, которые аналогично вышеописанному ранжировали по баллам:

1. цитоархитектоника нейронов коры головного мозга – в этой категории оценивали пространственное расположение, форму и количество нейронов, соответствие слоистости расположения нейронов нормальному строению коры;

2. глиоархитектоника – оценивали общее строение и пространственное соотношение элементов нейроглии;

3. дистрофия нейронов – оценивали внутриклеточные изменения, четкость визуализации мембран, цитоплазматическую зернистость и степень вакуолизации;

4. повреждение сосудов микроциркуляторного русла коры головного мозга – оценивали степень мукоидного набухания сосудистых стенок и выраженность периваскулярного отека.

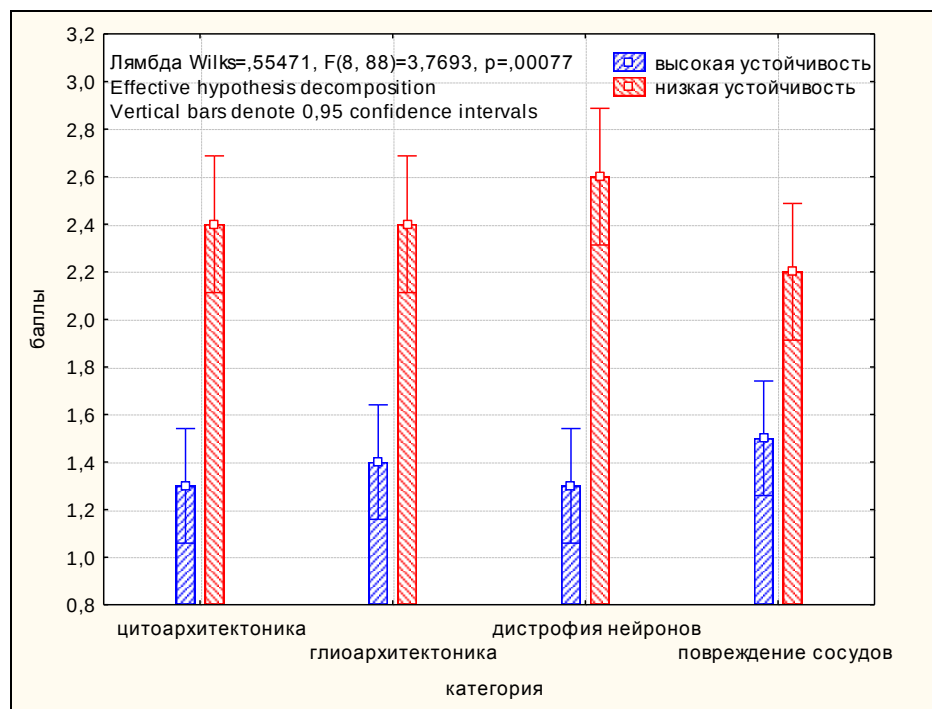


Рисунок 20 – Сравнительный анализ интенсивности повреждения коры головного мозга по гистологическим категориям у крыс с разной устойчивостью к гипоксии

Как видно на рисунке 20, у животных с высокой устойчивостью к гипоксии не отмечалось какой-либо особой селективности гистологических сдвигов, все они находились в диапазоне слабо выраженных изменений. В группе животных с низкой устойчивостью к гипоксии наиболее пострадавшей категорией оказались нейроны, что характеризовалось умеренными и тяжелыми дистрофическими изменениями с нарушением стратификации (слоистости). Также в данной группе животных часто наблюдались умеренно выраженные изменения в

микроциркуляторном сосудистом русле коры головного мозга и со стороны нейроглии, как астроцитов, так и нейрофиламентов. Изменений специфического характера при гистологическом исследовании в обеих группах животных не было выявлено.

Таким образом, степень повреждения коры головного мозга после воздействия системной гипоксии и последующей реперфузии зависит от устойчивости к гипоксии. У животных неустойчивых к кислородному голоданию наибольшие патологические изменения среди пострадавших структурных элементов коры мозга отмечались в нейронах, астроцитах и сосудах микроциркуляторного русла.

Для оценки степени постгипоксической реакции астроглиальных клеток коры головного мозга мы провели морфометрический анализ (таблица 6). Патоморфологические изменения со стороны астроглии затрагивали все периоды эксперимента и зависели от исходной устойчивости к гипоксии. У животных с высокой устойчивостью к гипоксии с первых же суток постреанимационного периода наблюдалось постепенное нарастание количества GFAP⁺-астроцитов, сначала в виде тенденции, которая к 5-м суткам приобрела характер статистической значимости (125% от контрольного уровня, $p \leq 0,05$). Эти изменения в 1-3-и сутки сопровождались достоверным укорочением отростков (на 18-20%, $p \leq 0,05$) и увеличением площади тел астроцитов (на 25%, $p \leq 0,05$). Повышенная экспрессия GFAP в этот период носит адаптивный характер и выполняет репаративные функции [396; 425].

К 14 суткам после перенесенного критического состояния наблюдалась гиперэкспрессия GFAP (164% от исходных значений, $p \leq 0,05$). Параллельно выявлялось статистически значимое увеличение средней площади их тел в 1,4 раза ($p \leq 0,05$), обусловленное гипертрофией цитоплазмы, экспрессирующей GFAP, а также удлинение отростков в среднем на 35% ($p \leq 0,05$). Описанные изменения играют, с одной стороны, положительную роль, отграничивая зону некроза и аутоиммунного воспалительного процесса [362; 396]. В то же время глиальные рубцы препятствуют регенерации аксонов, тем самым нарушая функционирование нейрональных связей [124].

Таблица 6 – Морфометрические показатели глиальных клеток фронтальной зоны коры больших полушарий головного мозга у экспериментальных животных в динамике восстановительного периода, $M \pm \sigma$, $n=10$

Периоды наблюдения	Группы животных					
	ВУ			НУ		
	Количество GFAP ⁺ -астроцитов на 1 мм ² среза	Длина отростков астроцитов, мкм	Площадь тел астроцитов, мкм ²	Количество GFAP ⁺ -астроцитов на 1 мм ² среза	Длина отростков астроцитов, мкм	Площадь тел астроцитов, мкм ²
Контр	590,0±118,98	18,2±3,18	6,7±1,42	610,5±141,67	17,3±3,59	5,9±1,14
1 сут	624,5±122,78	14,6±3,11*	8,4±1,48*	348,5±72,40* [#]	6,8±1,28* [#]	3,5±0,55* [#]
3 сут	685,8±81,60	15,2±2,59*	8,8±1,79*	397,0±85,86* [#]	8,5±1,90* [#]	4,5±1,00* [#]
5 сут	738,6±74,43*	15,7±2,98	7,5±1,44	432,7±98,57* [#]	9,1±1,76* [#]	4,0±0,91* [#]
7 сут	703,6±125,34*	16,7±2,97	7,9±1,35	401,5±78,32* [#]	8,8±1,87* [#]	4,1±0,76* [#]
14 сут	967,7±205,03*	24,6±3,53*	12,4±2,81*	428,5±84,00* [#]	6,7±1,35* [#]	4,9±0,82* [#]
21 сут	848,5±177,98*	22,4±4,17*	5,7±1,38	512,8±104,73 [#]	8,6±1,76* [#]	3,6±0,84* [#]
35 сут	839,0±175,15*	23,5±3,63*	4,2±0,92*	520,3±112,00 [#]	12,5±2,14* [#]	3,9±0,92*
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, $p \leq 0,05$						

На 21-е сутки сохраняющаяся повышенная экспрессия GFAP сопровождается некоторым снижением клеточной плотности, что может свидетельствовать о включении процессов апоптотического повреждения глиальных структур в условиях энергодефицита и избытка свободных радикалов, глутамата и кальция [259]. К 35-м суткам астроциты также имели выраженную экспрессию GFAP, характеризовались мелкими размерами, паутиновидной формой с равномерным расположением в слоях коры головного мозга [124; 194].

У животных с низкой устойчивостью к гипоксии на всем протяжении постгипоксического периода отмечалось снижение плотности GFAP-позитивных клеток с укорочением длины отростков и уменьшением площади тел астроци-

тов. Межгрупповые различия были статистически значимы по всем исследованным показателям почти во все контрольные сроки наблюдения.

Таким образом, патогистологические изменения в коре головного мозга иллюстрируют различия, выявленные при нейрофизиологическом исследовании животных в постреанимационном периоде. Исходно низкая устойчивость к гипоксии была отмечена выраженными дистрофическими изменениями нейронов, повреждением астроцитов и нарушениями микроциркуляции, что отразилось на неврологической картине церебрального поражения. Ускоренное неврологическое восстановление с минимизацией поведенческих расстройств животных толерантных к гипоксии происходило на фоне слабой выраженности и неселективности структурных изменений.

Глава 4. ВОВЛЕЧЕНИЕ КОРТИКОСТЕРОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИОННО-КОМПЕНСАТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПОСТРЕАНИМАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ОСТАНОВКИ СИСТЕМНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ У ЖИВОТНЫХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ГИПОКСИИ

4.1. Динамика содержания центральных кортикостероидных рецепторов в гиппокампе и гормонов гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы в плазме крови

Согласно современным данным, важнейшая роль в адаптивных процессах регуляции гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси, а также гибели/выживания нейронов мозга принадлежит глюкокортикоидным и минералокортикоидным рецепторам, выступающим в роли транскрипционных факторов и действующим взаимодополняюще [136]. Именно через эти рецепторы происходит реализация геномных эффектов глюкокортикоидных гормонов. Кортикостероидным рецепторам, имеющим разную чувствительность к изменению уровня глюкокортикоидов крови, отводится центральная роль в регуляции механизмов обратной связи [227]. В частности, МР, обладающие высоким сродством к кортизолу и не играющие самостоятельной роли в стресс-реактивности, способствуют функциональности ГР, в основном, путем максимального связывания глюкокортикоидов [409].

Анализ данных, полученных при исследовании базального уровня глюкокортикоидных рецепторов в гиппокампе контрольных животных, выявил статистически значимое влияние генетически детерминированных особенностей аэробного метаболизма на содержание ГР ($p \leq 0,05$) (таблица 7). Мощный стресс, вызванный остановкой кровообращения длительностью 5 мин и последующей реанимацией, повлек за собой значительные изменения в гормональном профиле плазмы крови и содержании кортикостероидных рецепторов в гиппокампе экспериментальных животных.

Таблица 7 – Содержание кортикостероидных рецепторов в гиппокампе крыс с разной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода после остановки системного кровообращения, М±σ, n=10

Периоды наблю- дения	Глюкокортикоидные рецепторы, мкг/г белка		Минералокортикоидные рецепторы, нг/г белка	
	Группы животных			
	ВУ	НУ	ВУ	НУ
контр	62,49±7,23	73,53±6,40 [#]	17,28±4,03	15,16±3,49
1 сут	47,44±7,90*	69,13±8,78	14,12±5,57	8,61±3,97* [#]
3 сут	67,20±10,98	72,47±11,79 [#]	17,70±4,28	10,84±4,72* [#]
5 сут	59,52±10,17	98,73±15,16* [#]	19,57±5,30	14,41±5,93
7 сут	48,12±4,81*	60,28±9,23* [#]	16,42±5,08	12,46±5,25
14 сут	42,27±13,11*	44,78±10,63*	21,77±3,51*	8,82±3,40* [#]
21 сут	53,12±7,53*	68,37±13,61 [#]	20,15±5,78	12,13±5,27 [#]
35 сут	55,42±8,48*	72,06±13,85 [#]	18,92±4,85	14,10±4,94
Примечание: *– статистически значимые отличия от контрольной группы, # – статистически значимые отличия от группы ВУ, p≤0,05				

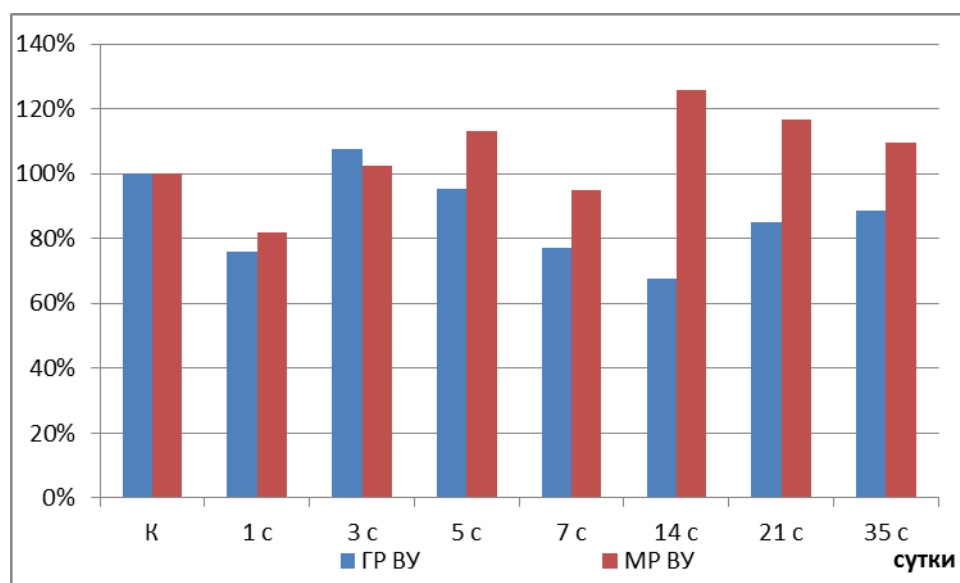


Рисунок 21 – Соотношение содержания глюкокортикоидных и минералокортикоидных рецепторов в гиппокампе крыс с высокой устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода, в % по отношению к контролю

К концу первых суток после экстремального воздействия у ВУ крыс происходило статистически значимое снижение уровня ГР рецепторов (до 76% от

базальных значений) при незначительной депрессии МР (82%) (таблица 7, рисунок 21).

Параллельно в плазме крови наблюдалась тенденция к подъему кортикотропина, сопровождаемая значимым увеличением выброса надпочечниками кортикостерона (142%, $p \leq 0,05$) и тенденцией к повышению уровня альдостерона (125%) (таблица 8, рисунок 22).

Таблица 8 – Содержание гормонов гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы в плазме крыс с разной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода после остановки системного кровообращения, $M \pm \sigma$, $n=10$

Периоды наблюдения	Показатели					
	Кортикотропин, пг/мл		Кортикостерон, нмоль/л		Альдостерон, пг/мл	
	Группы животных					
	ВУ	НУ	ВУ	НУ	ВУ	НУ
контр	72,68± 19,27	69,05± 17,53	189,27± 22,61	199,12± 49,28	320,10± 68,08	310,20± 78,72
1 сут	80,99± 16,49	120,30± 25,65* [#]	267,90± 23,37*	232,85± 55,87* [#]	401,23± 74,13*	466,13± 105,35* [#]
3 сут	198,98± 32,60*	59,20± 18,26 [#]	162,92± 23,56*	334,37± 43,18* [#]	204,60± 91,89*	453,26± 80,35* [#]
5 сут	148,76± 39,26*	214,48± 64,58*	175,26± 24,37	154,23± 29,10* [#]	189,06± 36,39*	399,19± 44,36* [#]
7 сут	148,99± 39,26*	200,82± 39,11*	185,46± 28,65	154,16± 24,40* [#]	233,69± 83,99	395,60± 62,42* [#]
14 сут	175,42± 39,15*	62,99± 14,70 [#]	145,82± 30,83*	127,75± 27,44* [#]	269,80± 85,74	402,50± 66,16* [#]
21 сут	154,88± 43,34*	74,58± 11,84 [#]	129,50± 26,03*	189,05± 26,97 [#]	223,43± 40,45*	466,82± 81,42* [#]
35 сут	97,53± 27,30*	61,70± 17,64 [#]	139,52± 27,36*	223,36± 28,79* [#]	308,43± 53,48	473,63± 77,26* [#]
Примечание: *– статистически значимые отличия от контрольной группы, # – статистически значимые отличия от группы ВУ, p<0,05						

В группе НУ крыс через 24 часа после реанимации наблюдалась критическая редукция МР (до 57%) при почти неизменившемся уровне ГР (93% от контроля) (рисунок 10), что может иметь резко негативные последствия для клеток

мозга [136]. В частности, нарушение функциональности рецепторов может вызывать нарушение механизмов обратной связи.

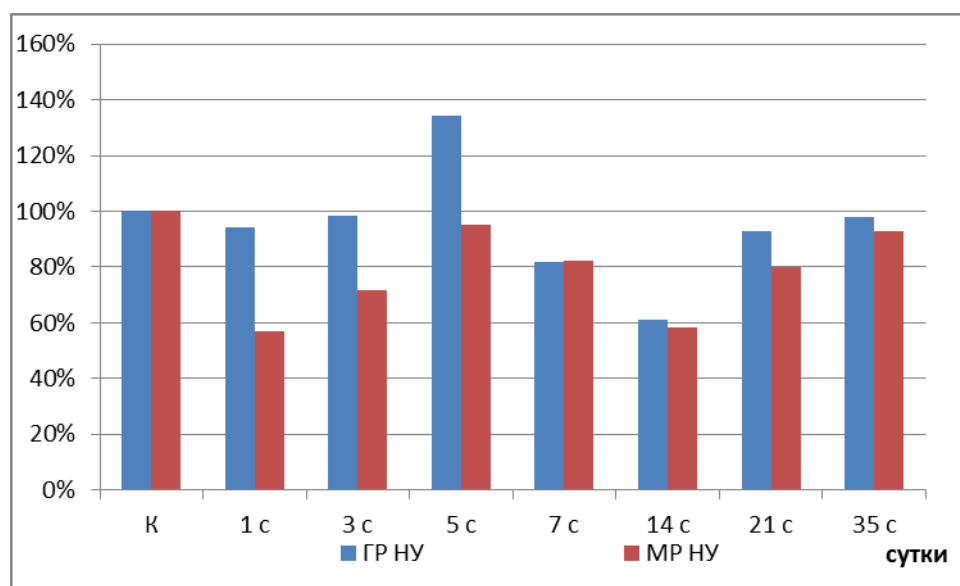


Рисунок 22 – Соотношение содержания глюкокортикоидных и минералокортикоидных рецепторов в гиппокампе крыс с низкой устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода, в % по отношению к контролю

На этом фоне наблюдался более значительный, чем в оппозитной группе, статистически достоверный подъем уровня кортикотропина (до 174% от базисных величин) (таблица 8, рисунок 24). Содержание в плазме крови кортикостероидных гормонов не только значимо превышало контрольные значения (кортикостерона на 17%, альдостерона на 50%), но имело также достоверные различия с аналогичными показателями группы сравнения. Такие однонаправленные изменения гормонального профиля свидетельствуют о дизрегуляции механизмов отрицательной обратной связи, что, по-видимому, в разной степени выраженности характерно для первых суток постгипоксического периода независимо от типа кислородного метаболизма.

В целом к концу первых суток постреанимационного периода прослеживалась четкая тенденция к снижению содержания кортикостероидных рецепторов, прежде всего минералокортикоидных, в гиппокампе. Описанные изменения в обеих группах животных, но в большей степени у НУ, сопровождались повы-

шением уровня кортикостерона в плазме крови на фоне роста кортикотропина, что может свидетельствовать о дизрегуляции механизмов отрицательной обратной связи.

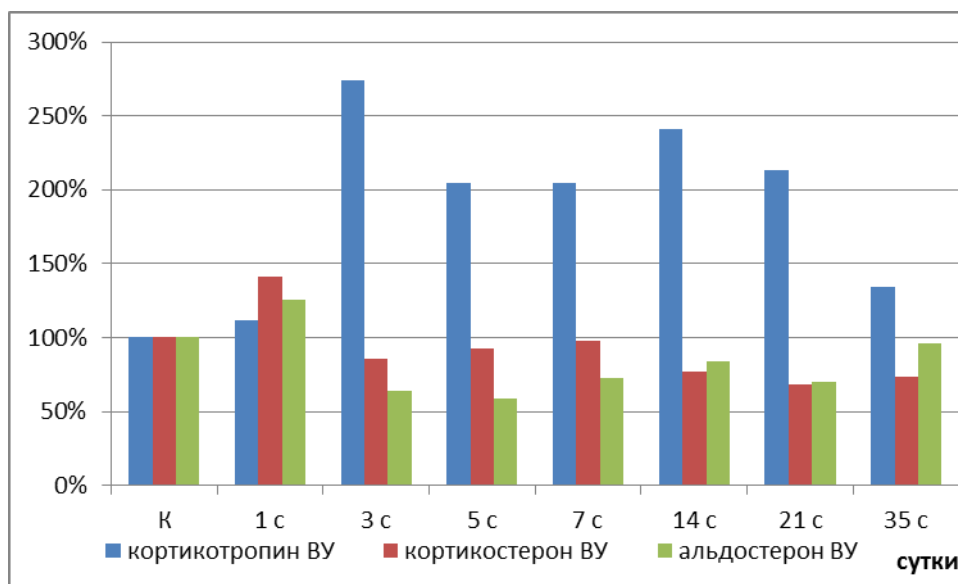


Рисунок 23 – Динамика кортикотропина, кортикостерона и альдостерона в плазме крови ВУ животных в восстановительном периоде после остановки системного кровообращения, в % по отношению к контролю

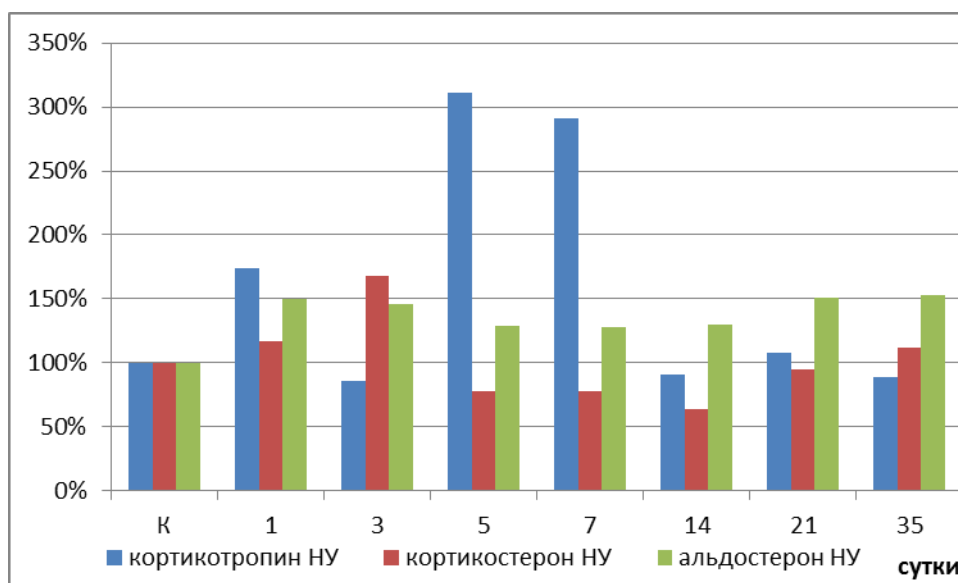


Рисунок 24 – Динамика кортикотропина, кортикостерона и альдостерона в плазме крови НУ животных в восстановительном периоде после остановки системного кровообращения, в % по отношению к контролю

На третьи сутки у ВУ крыс содержание ГР и МР несколько превысило контрольные показатели (рисунок 21). Такая кооперация вызывает усиление

протективных механизмов нейронов, активируя множество проадаптивных генов [27; 29]. Согласованные изменения динамики кортикостероидных рецепторов способствовали восстановлению реципрокности взаимоотношений между уровнями тропного и периферического гормонов, характерной для физиологического функционирования ГГАС: уровень кортикотропина в плазме ВУ животных вырос в 2,7 раза и достиг своих максимальных значений. Одновременно с этим содержание кортикостерона снизилось до 86% ($p \leq 0,05$) от базальных величин (рисунок 23). Снижение уровня КС можно объяснить нормализацией механизмов отрицательной обратной связи, увеличением расхода гормона в метаболических реакциях и повышением его метаболизма в печени [57; 58]. Содержание альдостерона снизилось по сравнению с предыдущим периодом почти в 2 раза и составило 64% от уровня контроля ($p \leq 0,05$) (таблица 8, рисунок 23).

В эти же сроки в группе НУ животных уровень ГР по сравнению с предыдущим отрезком почти не менялся, тогда как концентрация МР несколько выросла (на 15%), но продолжала оставаться статистически значимо ниже от исходных значений (рисунок 22). На этом фоне наблюдался максимальное содержание кортикостерона и сохранялся высокий уровень альдостерона, которые составили соответственно 168% и 146% от показателей контрольной группы ($p \leq 0,05$). Это вызвало включение механизма торможения ГГАС и уменьшение содержания в плазме крови кортикотропина до показателей ниже контрольных (таблица 8, рисунок 24).

На пятые сутки эксперимента содержание кортикостерона в плазме крови толерантных крыс постепенно росло и приблизилось к контрольным цифрам (93%), в то время как уровень альдостерона остался практически на тех же значениях (59%, $p \leq 0,05$). Изменялась и концентрация кортикотропина, которая, несмотря на некоторое снижение, продолжала оставаться значимо выше контрольных величин (в 2 раза) (таблица 8, рисунок 23). Уровень ГР был близок к норме, а МР превысил базовые показатели на 13%, при этом различия не имели статистической значимости (рисунок 22).

У НУ отмечался скачок содержания ГР (134%, $p \leq 0,05$) при значительно более низком уровне МР (рисунок 22). Содержание кортикостерона в плазме по сравнению с показателями третьих суток снизилось почти в 2 раза, возможно, вследствие истощения надпочечников, вызванного масштабным их образованием на предыдущем этапе. Это вызвало пиковый подъем кортикотропина (в 3 раза выше контроля, $p \leq 0,05$). Уровень альдостерона при этом оставался статистически значимо выше контроля (таблица 8, рисунок 24).

К концу первой недели эксперимента у животных с высокой устойчивостью к гипоксии уровень ГР продолжал снижаться (77% от нормы, $p \leq 0,05$). Но активность МР сохранялась на уровне контроля (таблица 7, рисунок 21). По-прежнему регистрировались высокие показатели кортикотропина (205% от контроля, $p \leq 0,05$). Несмотря на это, содержание кортикостерона не превышало, а альдостерона было на 27% ниже контрольных значений (таблица 8, рисунок 23).

В этот же период у животных с низкой устойчивостью к гипоксии была отмечена начавшаяся редукция как ГР, так и МР (таблица 7, рисунок 22). Несмотря на активную стимуляцию надпочечников высокими уровнями кортикотропина (почти в 3 раза выше контроля, $p \leq 0,05$), концентрации кортикостерона и альдостерона не изменились (таблица 7, рисунок 12). Это вполне объяснимо, учитывая, что продукция минералокортикоидов регулируется в большей степени ангиотензином II и внеклеточным калием, чем кортикотропином. При длительном повышении уровня кортикотропина содержание минералокортикоидов в крови вначале возрастает, но вскоре снижается («минералокортикоидное ускользание») [35].

Наиболее значительные изменения в экспрессии кортикостероидных рецепторов произошли на 14-е сутки. У ВУ к гипоксии особей уровень ГР упал до самых низких за весь период наблюдения показателей (68% от нормы, $p \leq 0,05$). При этом наблюдалось значительное повышение концентрации МР, которая показала максимально высокие значения за весь период наблюдения, значительно превысив базовые показатели (126% от уровня контроля, $p \leq 0,05$) (таблица 7, рисунок 21). Содержание кортикостерона в плазме на этом фоне продолжало сни-

жаться (77% от контрольных цифр), несмотря на стимуляцию надпочечников высокими концентрациями кортикотропина (таблица 8, рисунок 23).

В дальнейшем у ВУ животных, несмотря на явную тенденцию к росту ГР, их содержание так и не восстановилось до контрольного уровня. Содержание МР снизилось и стало сопоставимо с контрольным, таким образом, баланс рецепторов был смещен в пользу отчетливо преобладающей активности минералокортикоидных рецепторов. Уровни альдостерона и кортикостерона при сохраняющейся стимуляции кортикотропином оставались ниже контрольных.

У НУ к гипоксии животных к концу второй недели эксперимента также произошли существенные сдвиги в гормональном профиле ГГАС, имевшие, однако, другую направленность. Содержание кортикотропина стало на 10%, а кортикостерона на 36% ниже контрольной отметки ($p \leq 0,05$) (таблица 8, рисунок 24). На этом фоне показатели альдостерона сохранялись на повышенном уровне (130% от контрольного, $p \leq 0,05$), что имеет негативные последствия, увеличивая задержку воды в организме и усугубляя нарушения водно-солевого баланса. В дальнейшем до самого конца наблюдения содержание альдостерона продолжало расти и к 35-м суткам составило 153% от базальных значений ($p \leq 0,05$).

На уровне рецепции кортикостероидных гормонов описанные изменения сопровождалось статистически значимым снижением содержания ($p \leq 0,05$) на г белка обоих видов рецепторов до минимальных зафиксированных нами значений (таблица 7, рисунок 22).

Полного восстановления функциональных взаимосвязей внутри ГГАС в группе НУ животных не произошло и к концу периода наблюдения, несмотря на отчетливую тенденцию к нормализации взаимоотношений экспрессированных высокоаффинных и низкоаффинных кортикостероидных рецепторов. Содержание кортикотропина держалось возле контрольной отметки, тогда как уровень кортикостерона на 21-е сутки составлял всего 45% ($p \leq 0,05$), а на 35-е – 112% от показателей контрольной группы ($p \leq 0,05$). Концентрация ГР составляла на 21-е сутки 93% от базового уровня ($p \leq 0,05$), МР 80%, на 35-е – 98% и 93% ($p \leq 0,05$) соответственно (таблица 8, рисунок 24).

Таким образом, остановка системного кровообращения длительностью 5 минут и последующая реперфузия вызывают значительные изменения содержания кортикостероидных рецепторов гиппокампа, влекущие перестройку адаптивных регуляторных механизмов функционирования гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы. Существенную роль в этом играет соотношение минералокортикоидных и глюкокортикоидных рецепторов. Оба типа рецепторов, функционирующих как факторы транскрипции, при кооперативной экспрессии белковых продуктов активируют множество проадаптивных генов, которые индуцируют нейропротективные механизмы [27; 29]. Снижение вследствие гипоксического повреждения уровня МР, прежде всего, и лишь затем изменение содержания ГР являются факторами дезадаптации, влияющими на течение постгипоксического восстановительного периода.

4.2. Динамика содержания периферических кортикостероидных рецепторов

Ответ органов-мишеней на стрессовую гормональную стимуляцию при критических состояниях может варьировать в широком диапазоне, поскольку зависит от множества факторов, в том числе от количества и чувствительности гормональных рецепторов. Детерминированность реализации адаптационной стратегии на уровне рецепторов способствует восстановлению сниженной или утраченной функции органов и систем в соответствии с генетически закрепленной стандартной метаболической реакцией [79]. При анализе динамики уровней периферических кортикостероидных рецепторов обращает на себя внимание выраженная тканеспецифичность изменений, происходящих после критического гипоксического воздействия.

Динамика содержания кортикостероидных рецепторов миокарда

Эндогенные глюкокортикоиды оказывают большую часть своих действий через близкородственные глюко- и минералокортикоидные рецепторы. Концентрации эндогенных глюкокортикоидов превосходят концентрации альдостерона на 2-3 порядка, поэтому они являются физиологическим лигандом и для МР, и

для ГР, за исключением клеток-мишеней альдостерона, в которых происходит предрецепторная инактивация глюкокортикоидов ферментом 11β -гидроксистероиддегидрогеназой 2 типа (11β -HSD2) [269]. В кардиомиоцитах практически отсутствует указанный фермент [209]. Следовательно, эффекты глюкокортикоидов в кардиомиоцитах потенциально опосредуются как ГР, так и МР. Оба рецептора способны связывать и активировать многие из одних и тех же генов-мишеней, вызывая, тем не менее, разные, а иногда и противоположные эффекты при действии глюкокортикоидов [206]. Таким образом, баланс между экспрессией МР и ГР имеет решающее значение для гомеостаза, а выяснение их соответствующих физиологических ролей в сердечно-сосудистой системе важно для понимания их патофизиологической значимости и разработки новых терапевтических подходов к лечению сердечной патологии.

При исследовании миокарда интактных животных (контрольные группы) установлено, что животные с исходно разной устойчивостью к гипоксии не отличались по содержанию кортикостероидных рецепторов (таблица 9).

Таблица 9 – Содержание кортикостероидных рецепторов в миокарде крыс с разной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода после остановки системного кровообращения, $M \pm \sigma$, $n=10$

Периоды наблю- дения	Глюкокортикоидные рецепторы, мкг/г белка		Минералокортикоидные рецепторы, нг/г белка	
	Группы животных			
	ВУ	НУ	ВУ	НУ
контр	35,02±4,43	32,55±4,90	106,16±6,33	110,34±6,57
1 сут	42,99±9,58*	18,98±5,56* [#]	116,78±8,95	76,45±10,51* [#]
3 сут	25,40±6,47*	15,52±4,30* [#]	36,16±8,29*	125,97±10,86* [#]
5 сут	39,55±6,43	24,14±7,83* [#]	150,26±11,42*	120,03±10,19* [#]
7 сут	46,25±7,52*	40,79±7,17*	111,48±16,13	182,68±9,21* [#]
14 сут	58,52±6,90*	28,61±9,62 [#]	109,02±10,99	150,86±10,38* [#]
21 сут	52,40±6,68*	26,62±7,32 [#]	118,94±8,39*	154,68±12,43* [#]
35 сут	43,77±7,45*	30,41±7,17 [#]	121,69±9,89*	160,55±13,47* [#]
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, p≤0,05				

Через сутки после моделирования 5-минутной остановки системного кровообращения у ВУ животных наблюдалась статистически значимое умеренное повышение содержания ГР (до 123% от исходных значений, $p \leq 0,05$), которое к концу 3-х суток сменилось снижением до 73% ($p \leq 0,05$), а еще через 48 часов несколько превысило контрольные показатели.

С конца первой недели экспериментов концентрация ГР начала быстро расти и к 14-м суткам достигла своих максимальных значений (167%, $p \leq 0,05$). Далее уровень глюкокортикоидных рецепторов держался приблизительно на этом уровне до завершения периода наблюдения, сохраняя статистическую значимость отличий от контроля.

У НУ крыс в 1-3-и сутки восстановительного периода после экстремального воздействия наблюдалась значительная редукция ГР, которая продолжала усугубляться, и к концу 3-х суток концентрация рецептора снизилась до 48% от исходных данных. Все изменения были статистически значимы ($p \leq 0,05$).

В 5-7-е сутки произошел скачок уровня ГР миокарда: содержание рецепторов увеличилось по сравнению с предыдущим отрезком в 1,5 раза и превысило уровень контроля в 1,25 раза ($p \leq 0,05$).

Спустя 2 недели после пережатия сосудисто-нервного пучка наблюдалась небольшая репрессия уровня ГР, которая сохранялась до завершения периода наблюдения. Различия с контролем в этот период не были достоверны, в то время как статистическая значимость межгрупповых различий определялась во все отрезки наблюдения, кроме 1-х и 7-х суток (таблица 9).

Концентрация минералокортикоидных рецепторов миокарда после воздействия системной гипоксии также претерпела значительные изменения. В течение первых суток у ВУ животных наблюдалась тенденция к повышению уровня МР, который после трехкратного снижения к концу 3-х суток упал до 34% от контрольных данных ($p \leq 0,05$). На 5-е сутки произошел скачок содержания МР на г белка миокарда, его уровень составил 142% от исходных показателей ($p \leq 0,05$). К концу первой недели концентрация рецепторов стала

сопоставима с контрольными величинами, а на 21- и 35-е умеренно превысила их ($p \leq 0,05$) (таблица 9).

У НУ крыс линия тренда динамики содержания МР свидетельствовала о повышенной активности минералокортикоидных рецепторов во все контрольные отрезки времени, за исключением первого. Максимум отмечался на 7-е сутки (166% от исходных значений), минимум – на первые (69%). Все изменения были статистически значимы, включая межгрупповые различия (таблица 9).

Анализ динамики соотношения уровней обоих рецепторов в ткани миокарда свидетельствует о том, что на протяжении всего эксперимента в обеих опытных группах животных баланс ГР/МР был нарушен (рисунок 25, 26).

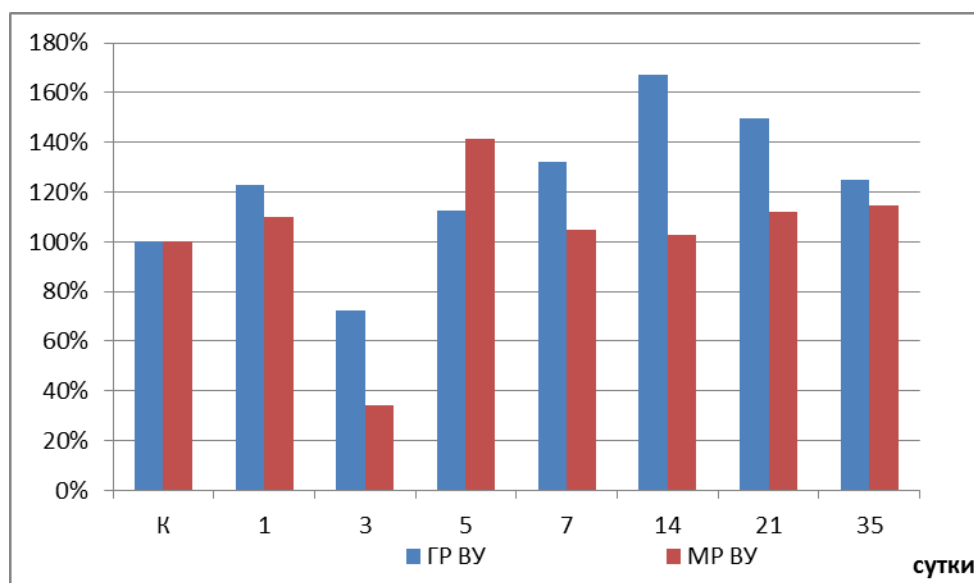


Рисунок 25 – Соотношение содержания глюкокортикоидных и минералокортикоидных рецепторов в миокарде крыс с высокой устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода, в % по отношению к контролю

У высокоустойчивых крыс во все контрольные отрезки, за исключением 5-х суток, отчетливо превалирует уровень глюкокортикоидных рецепторов, особенно явный на 14-е сутки эксперимента, а в оппозитной группе во все сроки соотношение содержания ГР/МР смещается в сторону последних. Таким образом, в первые сутки восстановительного периода системная гипоксия и последующая реперфузия в миокарде экспериментальных животных

высокоустойчивых к гипоксии вызывают повышение содержания кортикостероидных рецепторов, а у крыс со сниженной устойчивостью подавляют их активность, что, вероятнее всего, связано с тяжелым энергодефицитом и масштабными нарушениями микроциркуляции и имеет целью снижение энергозатрат.

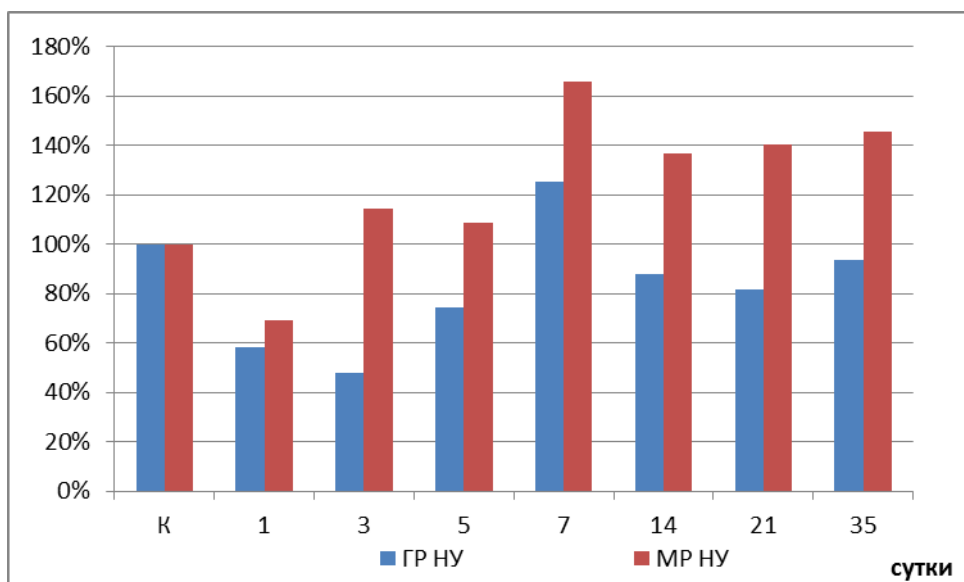


Рисунок 26 – Соотношение содержания глюкокортикоидных и минералокортикоидных рецепторов в миокарде крыс с низкой устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода, в % по отношению к контролю

В более поздние сроки постгипоксического периода для животных с высокой устойчивостью к гипоксии характерно отчетливое превалирование глюкокортикоидной экспрессии над минералокортикоидной. У животных с низкой устойчивостью к гипоксии наблюдается обратная ситуация.

Динамика содержания кортикостероидных рецепторов легких

Уровни содержания глюко- и минералокортикоидных рецепторов легких в контрольных группах животных с разной устойчивостью к гипоксии не имели статистически значимых различий.

Через сутки после остановки кровообращения у ВУ крыс отмечалось статистически значимое повышение содержания глюкокортикоидных рецепторов (на 19% выше исходных данных, $p \leq 0,05$) (таблица 9, рисунок 27). На 3-и сутки наблюдалась значительная редукция ГР до 83% от контрольного

уровня ($p \leq 0,05$). С конца пятых суток эксперимента содержание ГР начало расти, сближаясь с контрольными значениями, а на 14-35-е сутки достоверно превышая их. К концу периода наблюдения уровень ГР превысил контрольные цифры на 40% ($p \leq 0,05$).

Таблица 10 – Содержание кортикостероидных рецепторов в легких крыс с разной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода после остановки системного кровообращения, $M \pm \sigma$, $n=10$

Периоды наблю- дения	Глюкокортикоидные рецепторы, мкг/г белка		Минералокортикоидные рецепторы, нг/г белка	
	Группы животных			
	ВУ	НУ	ВУ	НУ
контр	27,31±4,83	23,86±4,60	23,81±3,76	26,27±3,78
1 сут	32,41±6,33*	18,84±4,67* [#]	25,17±7,92	27,14±4,95
3 сут	22,64±4,84*	13,28±3,75* [#]	18,12±5,09*	29,76±9,60 [#]
5 сут	24,34±6,63	21,19±3,90	15,52±5,94*	25,67±7,18 [#]
7 сут	25,38±7,37	22,59±5,56	24,63±6,27	35,16±5,13* [#]
14 сут	33,44±4,51*	26,01±5,00 [#]	15,18±5,02*	37,42±8,17* [#]
21 сут	36,83±6,52*	24,33±6,97 [#]	22,44±4,50	32,46±5,97* [#]
35 сут	38,28±9,48*	26,84±6,90 [#]	20,17±5,05	30,61±3,62* [#]
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, # – статистически значимые отличия от группы ВУ, p<0,05				

Концентрация МР у ВУ животных была статистически значимо редуцирована в 3-5-е и 14-е сутки, в остальные контрольные точки значения показателя были сопоставимы с контрольными (таблица 10, рисунок 27). Таким образом, содержание глюкокортикоидных рецепторов в ткани легких на протяжении почти всего постреанимационного периода было выше содержания родственных минералокортикоидных рецепторов.

У крыс с низкой устойчивостью гипоксии к концу первых суток после критического гипоксического воздействия наблюдалось снижение содержания ГР до 79% ($p \leq 0,05$) при почти не изменившемся уровне МР (таблица 10, рисунок 28). На 3-и сутки отмечались минимальные значения ГР (56%, $p \leq 0,05$). Начиная с 5-х суток достоверность различий между опытными и контрольными

значениями ГР исчезла, а содержание рецепторов стало сопоставимо с исходными показателями.

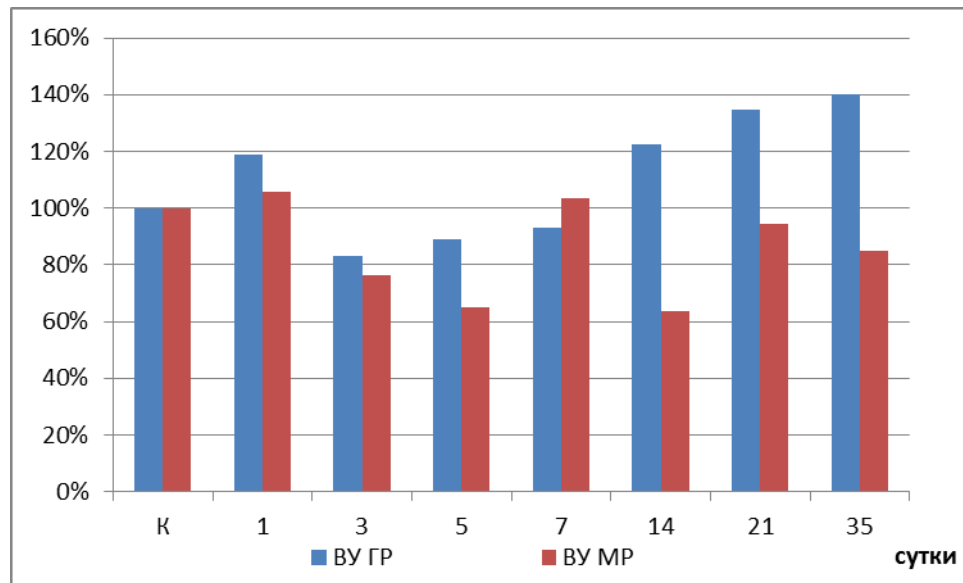


Рисунок 27 – Соотношение содержания глюкокортикоидных и минералокортикоидных рецепторов в легких крыс с высокой устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода, в % по отношению к контролю

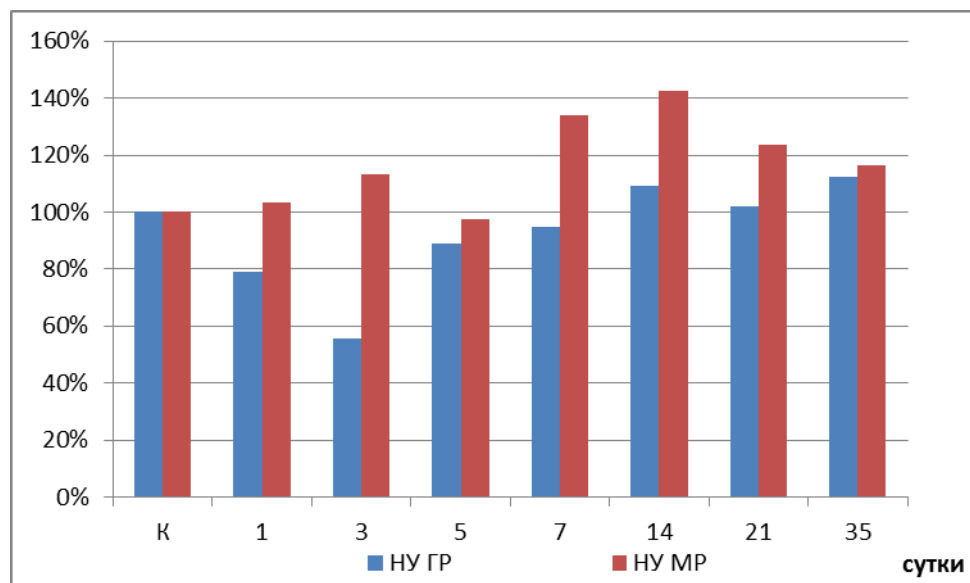


Рисунок 28 – Соотношение содержания глюкокортикоидных и минералокортикоидных рецепторов в легких крыс с низкой устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода, в % по отношению к контролю

В период 1-5-е сутки концентрация МР была близка к контрольным данным, а впоследствии градуально росла: на 7-е сутки показатель составил 134%, на 14-е 142%, на 21-е 124% от контрольного уровня ($p \leq 0,05$). Соотношение

ГР/МР в течение всего эксперимента было нарушено, концентрация МР почти во все контрольные отрезки времени на фоне нормальных или сниженных показателей ГР была выше.

Динамика содержания кортикостероидных рецепторов почек

Почки, наряду с печенью, являются важнейшим органом, участвующим в регуляции водно-солевого баланса, процессах детоксикации и поддержке гомеостаза. В почках, которые являются главным органом-мишенью для альдостерона, помимо традиционно повсеместно экспрессируемых глюкокортикоидных рецепторов, представлено максимальное количество минералокортикоидных. Селективность минералокортикоидных рецепторов в почках обеспечивается второй изоформой фермента 11β -гидроксистероиддегидрогеназы, превращающей активные формы глюкокортикоидов (кортизол у человека и кортикостерон у грызунов) в неактивные метаболиты. Тяжелые расстройства кровообращения, возникающие после остановки системного кровообращения и реперфузии, неизбежно влекут за собой нарушение регуляции метаболических процессов и их нормального течения.

Контрольные крысы с разным фенотипом устойчивости к гипоксии не отличались по содержанию кортикостероидных рецепторов.

Концентрация глюкокортикоидных рецепторов в почках ВУ крыс в течение постреанимационного периода менялась волнообразно: в первые сутки уровень ГР не изменился, далее следовал его спад до 78% от исходных данных ($p \leq 0,05$). На пятые сутки наблюдался подъем показателя, при этом его значения стали сопоставимы с контрольными. В период 14-35-е сутки восстановительного периода содержание ГР неуклонно повышалось, было статистически значимо отлично от контроля, и к окончанию эксперимента превысило исходный уровень на 34% (таблица 11, рисунок 29).

Содержание МР в этой группе животных менялось более значительно: в 1-3-и сутки наблюдалось постепенное его снижение до 51% от базисных значений, затем начался медленный подъем уровня показателя.

Таблица 11 – Содержание кортикостероидных рецепторов в почках крыс с разной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода после остановки системного кровообращения, М±σ, n=10

Периоды наблю- дения	Глюкокортикоидные рецепторы, мкг/г белка		Минералокортикоидные рецепторы, нг/г белка	
	Группы животных			
	ВУ	НУ	ВУ	НУ
контр	22,79±4,18	26,41±4,68	175,31±10,54	168,55±8,50
1 сут	23,22±7,65	19,67±6,12*	148,32±11,50*	163,83±10,58 [#]
3 сут	17,78±3,92*	22,85±6,17 [#]	89,55±10,45*	165,18±11,11 [#]
5 сут	26,07±7,98	21,39±6,31*	119,21±10,35*	226,64±12,06* [#]
7 сут	22,32±6,13	19,02±6,74*	120,12±9,30*	217,00±12,59* [#]
14 сут	27,45±8,21*	20,86±6,66* [#]	154,27±11,06*	191,48±12,20* [#]
21 сут	29,62±6,85*	15,32±3,54* [#]	161,28±11,16	199,75±13,78* [#]
35 сут	30,60±7,87*	24,03±5,23 [#]	171,80±10,59	210,86±15,62* [#]
Примечание: *– статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, p<0,05				

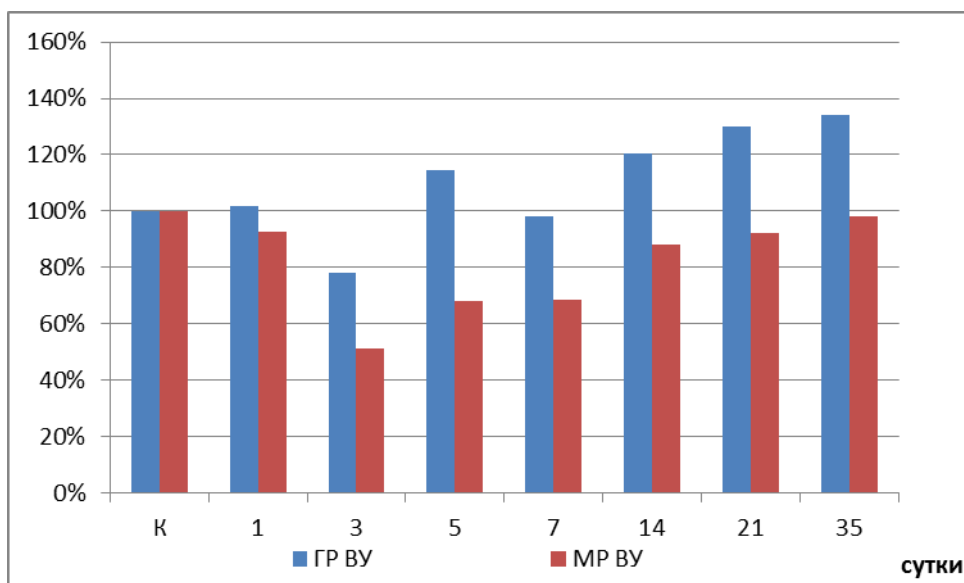


Рисунок 29 – Соотношение содержания глюкокортикоидных и минералокортикоидных рецепторов в почках крыс с высокой устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода, в % по отношению к контролю

В период 1-14-е сутки изменения были статистически значимы. К окончанию эксперимента концентрация ГР на г белка почечной ткани стала сопоставима с контрольными значениями (таблица 11, рисунок 29).

Примечательно, что во все сроки соотношение содержания ГР/МР было в пользу первого вида рецепторов.

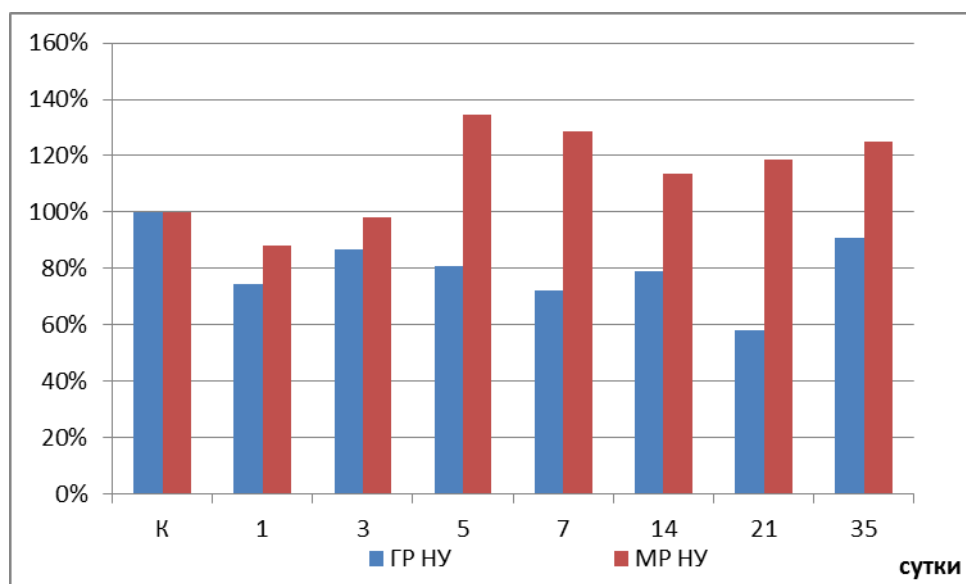


Рисунок 30 – Соотношение содержания глюкокортикоидных и минералокортикоидных рецепторов в почках крыс с низкой устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода, в % по отношению к контролю

Для крыс с низкой устойчивостью к гипоксии было характерно достоверное повышение концентрации МР в течение всего эксперимента (за исключением первых трех суток), наиболее выраженное на 5-е сутки наблюдения. Напротив, содержание ГР было статистически значимо снижено во все контрольные сроки эксперимента, кроме 3-х и 35-х суток. Минимальные значения его отмечались в конце третьей недели наблюдения (58% от исходных данных, $p \leq 0,05$) (таблица 11, рисунок 30). Баланс между содержанием рецепторов был явно нарушен в пользу минералокортикостероидных рецепторов.

Динамика содержания кортикостероидных рецепторов печени

В сферу прямого или косвенного регулирующего влияния глюкокортикоидов входит большинство физиологических и биохимических процессов в организме. Печень является одним из главных органов-мишеней для кортикостероидных гормонов, которые реализуют свое действие через специфические рецепторы. Взаимодействие КС гормонов со своими ядерными

рецепторами важно для нормальной функции не только печени, но и организма в целом. Например, снижение активности печеночной ГР может привести к гиперкортизолизму в результате компенсаторного включения механизмов обратной связи гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси в ответ на снижение периферической глюкокортикоидной чувствительности [412].

В нашем исследовании контрольные высокоустойчивые и низкоустойчивые к гипоксии крысы не имели статистически значимых различий в базальном уровне глюкокортикоидных рецепторов, концентрация минералокортикоидных рецепторов у ВУ особей была значимо выше (таблица 11). После моделирования системной гипоксии и реперфузии у ВУ крыс на фоне максимально высокого для этой группы животных уровня кортикостерона (таблица 7, рисунок 11) наблюдалось почти двукратное повышение активности ГР ($p \leq 0,05$) и небольшой, но, тем не менее, статистически значимый рост уровня МР (115% от исходных значений, $p \leq 0,05$) (таблица 12, рисунок 31). Такая реакция рецепторов представляется вполне закономерной и адекватной: на волне повышения кортикостерона в гормональный ответ вовлекаются не только МР, имеющие высокий аффинитет к гормону, но и ГР. Причем степень активации ГР зависит от уровня кортикостерона.

У животных с низкой устойчивостью к гипоксии в этот период так же отмечались значимое повышение активности ГР, но в меньшей степени выраженное, и отчетливое снижение уровня МР (69 % от контрольных данных, $p \leq 0,05$) (таблица 12, рисунок 32).

На третьи сутки восстановительного периода у ВУ крыс в условиях резкого снижения уровня кортикостерона в плазме крови содержание обоих видов рецепторов в ткани печени снизилось до нормальных цифр. У НУ максимально выраженная за весь экспериментальный период кортикостеронемия сопровождалась снижением содержания ГР до базисных цифр, концентрация МР по-прежнему была ниже контроля (89%, $p \leq 0,05$).

Таблица 12 – Содержание кортикостероидных рецепторов в печени крыс с разной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода после остановки системного кровообращения, М±σ, n=10

Периоды наблю- дения	Глюкокортикоидные рецепторы, мкг/г белка		Минералокортикоидные рецепторы, нг/г белка	
	Группы животных			
	ВУ	НУ	ВУ	НУ
контр	25,14±1,93	30,10±2,02	123,67±6,60	117,36±5,05 [#]
1 сут	48,49±2,99*	34,61±1,44* [#]	142,23±8,80*	81,22±9,24* [#]
3 сут	24,16±2,85	29,20±2,48	119,96±13,64	104,51±9,09* [#]
5 сут	29,65±1,53	36,15±1,24* [#]	149,68±10,02*	139,50±10,03*
7 сут	32,43±2,06*	25,88±1,93 [#]	126,14±20,08	129,19±11,00*
14 сут	22,69±3,31	22,86±1,50*	93,34±9,27*	150,21±27,13* [#]
21 сут	26,25±2,47	26,49±3,40	108,68±14,64*	163,12±11,05* [#]
35 сут	27,53±2,87	32,52±4,37	133,88±11,96*	187,76±15,02* [#]
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, # – статистически значимые отличия от группы ВУ, p<0,05				

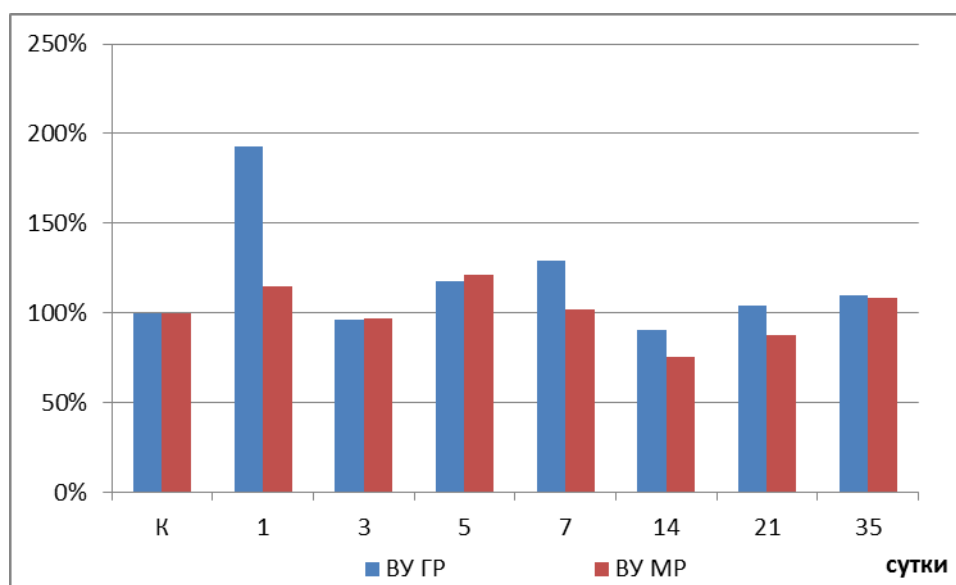


Рисунок 31 – Соотношение содержания глюкокортикоидных и минералокортикоидных рецепторов в печени крыс с высокой устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода, в % по отношению к контролю

Пятые сутки постгипоксического периода у ВУ крыс сопровождались медленным увеличением в крови кортикостерона, небольшим ростом МР и тенденцией к повышению ГР (таблица 12, рисунок 31). Эти изменения совпадают с

высокой активностью процессов СРО в печени. Возможно, нарушения окислительно-восстановительного равновесия стимулируют активацию транскрипционных факторов, в том числе рецепторов ядерных гормонов [387].

В оппозиционной группе в этот период уровень циркулирующего кортикостерона резко снижался, тем не менее произошло увеличение активности как ГР (121% от исходных данных, $p \leq 0,05$), так и МР (119%, $p \leq 0,05$), что свидетельствует в пользу дополнительной стимуляции рецепторов (таблица 12, рисунок 32).

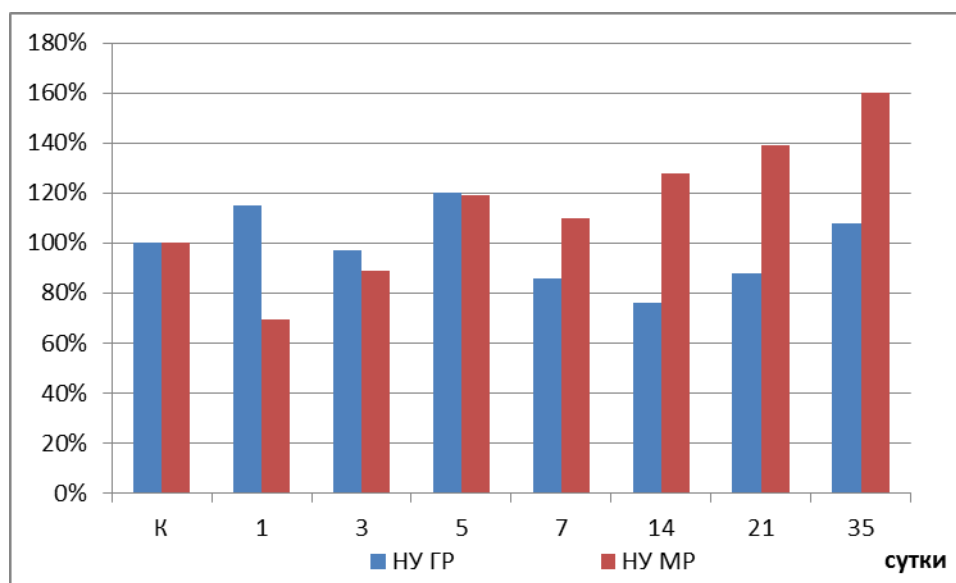


Рисунок 32 – Соотношение содержания глюкокортикоидных и минералокортикоидных рецепторов в печени крыс с низкой устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода, в % по отношению к контролю

К концу первой недели эксперимента в группе ВУ животных сохранялся один из самых высоких уровней активности ГР (129%, $p \leq 0,05$), показатели МР соответствовали исходным данным.

У НУ крыс этот отрезок времени отметился тенденцией к снижению ГР. Содержание МР по сравнению с предыдущим периодом также несколько снизилось, однако оставалось значимо выше контроля (110%). В последующем в контрольные отрезки 14-е, 21-е, 35-е сутки наблюдался статистически значимый градуальный рост содержания МР в печени: 128% – 139% – 160% от исходных величин. Параллельно наблюдалось и постепенное повышение уровня

ГР с минимума, который приходился на 14-е сутки (76%, $p \leq 0,05$), до значений, сопоставимых с контрольными, к окончанию эксперимента.

У животных с высокой устойчивостью к гипоксии на 14-е сутки уровень ГР по сравнению с предыдущим этапом снизился на 40% и стал сопоставим с контролем. Содержание МР уменьшилось до 75% от исходных данных ($p \leq 0,05$).

Восстановление реактивности рецепторов у ВУ животных наблюдалось лишь к концу пятой недели эксперимента. Интересно, что произошло это на фоне гипокортикостеронемии у ВУ. Другими словами, у ВУ животных стимуляция кортикостероидных рецепторов печени происходила помимо плазменного кортикостерона. Обращает на себя внимание, что в этой группе процентное соотношение содержания двух видов рецепторов либо не нарушалось (3-и, 5-, 35-е сутки), либо смещалось в сторону преобладания ГР (1-е, 7-, 14-, 21-е сутки) (рисунок 31).

У НУ крыс значительный статистически значимый рост МР происходил на фоне нормализации уровня кортикостерона и высокого уровня альдостерона в плазме. При этом, начиная с 7-х суток исследования, содержание минералокортикоидных рецепторов у животных с низкой устойчивостью к гипоксии отчетливо превалировало над содержанием глюкокортикоидных (рисунок 32).

Таким образом, проведенный нами анализ выявил определенные закономерности в динамике функционирования ГГАС и взаимоотношения «лиганд-рецептор», зависящие от устойчивости к гипоксии:

- острая ишемия изменяет функциональную кооперацию кортикостероидных рецепторов в гиппокампе: у ВУ общее снижение уровня рецепторов происходит при сохранении их баланса или преобладании МР, у НУ соотношение рецепторов смещается в пользу ГР. Следствием этого является развитие дисфункции ГГАС, проявляющейся развитием стойкого гипокортикоидного состояния на фоне гипоальдостеронизма у ВУ животных с третьих суток восстановительного периода, у НУ гипокортицизм развивается с 5-х суток на фоне гиперальдостеронизма;

- исходная чувствительность к гипоксии влияет на тренд динамики рецепторов в различных тканях: общей чертой реакции периферических кортикостероидных рецепторов у низкоустойчивых к гипоксии животных является десенситизация в первые трое суток постреанимационного периода с постепенным увеличением плотности минералокортикоидных рецепторов к концу 35-суточного мониторинга;
- у животных с высокой устойчивостью к гипоксии сохраняется чувствительность рецепторов к возбуждающим стимулам (кроме ткани почек в первые сутки), а кортикостероидная регуляция метаболических процессов осуществляется с преобладанием влияния глюкокортикоидных рецепторов.

Глава 5. ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ТКАНЯХ КРЫС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ГИПОКСИИ В ДИНАМИКЕ ПОСТРЕАНИМАЦИОННОГО ПЕРИОДА

5.1. Особенности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в ткани мозга

Динамика перекисного окисления липидов в ткани мозга

Активное статистически значимое накопление вторичных продуктов липопероксидации – соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, в группе ВУ шло с первых суток восстановительного периода. Максимум его определился на 14 сутки (165% от исходных значений, $p \leq 0,05$), но и к концу наблюдения его уровень оставался высоким (142%, $p \leq 0,05$) (таблица 13).

Таблица 13 – Содержание ТБК-рп в ткани мозга крыс с разной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода, в мкМ/г ткани

Периоды наблюдения	Группы животных	
	ВУ	НУ
	М $\pm$ σ, n=30	М $\pm$ σ, n=30
Контроль	3,33 $\pm$ 0,83	3,34 $\pm$ 0,79
1 сутки	4,49 $\pm$ 1,64*	3,18 $\pm$ 0,73
3 сутки	5,07 $\pm$ 2,33*	3,65 $\pm$ 0,20* [#]
5 сутки	4,37 $\pm$ 1,01*	3,94 $\pm$ 0,92*
7 сутки	5,31 $\pm$ 1,38*	3,79 $\pm$ 0,48* [#]
14 сутки	5,48 $\pm$ 0,94*	3,27 $\pm$ 0,37 [#]
21 сутки	3,57 $\pm$ 0,58	3,21 $\pm$ 0,33 [#]
35 сутки	4,73 $\pm$ 1,03*	3,49 $\pm$ 0,58 [#]
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, # – статистически значимые отличия от группы ВУ, $p \leq 0,05$		

Статистически значимое повышение содержания ТБК-рп у животных неустойчивых к гипоксии отмечалось только в период 3-7-е сутки. При этом межгрупповые статистически значимые различия не выявлялись только в фоновых показателях их концентрации и на 5-е и 21-е сутки постгипоксического периода.

Таким образом, системная ишемия с последующей реперфузией вызывают рост интенсивности свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов, зависящий от резистентности к гипоксии: в постгипоксическом периоде ВУ крысы обладают более высоким уровнем ПОЛ в ткани мозга по сравнению с оппозитной группой.

Относительно небольшая активация этих процессов у неустойчивых к гипоксии животных, вероятно, вызвана быстрым истощением у них субстратов окисления, более значительными расстройствами микроциркуляции и доставки кислорода, так как реперфузия не восстанавливает метаболические капилляры микроциркуляторного русла, а также высокой степенью эндотоксемии с подавлением перекисных реакций [109].

Динамика свободнорадикального окисления белков головного мозга

При анализе данных, полученных при исследовании гомогенатов головного мозга интактных животных в контрольных группах, установлено, что особенности кислородного метаболизма никак не отражались на базальном уровне как липопероксидации, так и большинства показателей окислительной модификации белков (таблица 14). Обращает на себя внимание существенно более высокий уровень металл-катализируемого окисления белков в группе животных с исходно низкой устойчивостью к гипоксии (на 51,6% по сравнению с ВУ, $p \leq 0,05$). Как следствие, данная группа отличалась большим резервно-адаптационным потенциалом.

Тяжелая гипоксия и вызванный этим состоянием окислительный стресс повлияли на течение свободнорадикальных процессов в головном мозге экспериментальных животных (таблица 13).

Таблица 14 – Динамика карбонилирования белков в головном мозге в восстановительном периоде после остановки системного кровообращения у крыс с различной устойчивостью к гипоксии

Периоды наблюдения	Показатели							
	КБ, Ед/г белка		МКО-КБ Ед/г белка		БТ Ед/г белка		РАП, %	
	Группы животных							
	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30
контр	10,46±4,96	10,20±5,00	17,62±3,56	36,38±7,60 [#]	99,17±19,82	103,93±12,56	40,62±8,52	71,32±9,68 [#]
1 сут	8,90±4,51	11,50±6,26	19,60±5,99	29,18±8,41 ^{*#}	142,23±13,41*	184,47±18,50 ^{*#}	54,63±9,14*	60,63±8,66*
3 сут	4,56±3,59*	13,91±4,97 ^{*#}	7,06±3,11*	33,39±7,65 [#]	74,74±15,88*	181,01±17,67 ^{*#}	35,47±7,49	58,35±7,76 ^{*#}
5 сут	3,88±2,70*	13,43±4,30 ^{*#}	6,12±2,75*	27,78±9,42 ^{*#}	50,72±14,47*	196,79±17,76 ^{*#}	36,64±7,08	51,72±6,19 ^{*#}
7 сут	4,13±2,67*	13,84±4,81 ^{*#}	8,66±3,39*	24,06±7,25 ^{*#}	70,72±15,59*	146,22±13,49 ^{*#}	52,32±8,13*	42,57±6,39*
14 сут	4,76±2,41*	12,67±4,13 ^{*#}	18,90±5,62	24,78±6,38 ^{*#}	90,15±18,52	136,07±13,36 ^{*#}	74,81±9,78*	48,91±5,84 ^{*#}
21 сут	3,36±2,08*	11,72±3,25 [#]	20,07±4,97*	19,54±5,91*	140,53±14,48*	114,55±12,48 ^{*#}	83,36±10,21*	40,08±6,08 ^{*#}
35 сут	3,83±2,57*	11,44±3,59 [#]	9,39±2,96*	19,13±5,93 ^{*#}	122,33±12,40*	120,43±12,40 ^{*#}	59,24±8,41*	40,25±7,18 ^{*#}
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, p≤0,05								

Как было показано ранее, уровень продуктов перекисного окисления липидов в гомогенатах головного мозга, исходно не зависящий от интенсивности кислородного метаболизма, наиболее значимо изменялся с 3-х по 14-е сутки наблюдения. Наибольший прирост продуктов ПОЛ наблюдался у ВУ, а наименьший – в группе НУ животных. При этом усиление интенсивности ПОЛ в головном мозге НУ животных наблюдалось только в первую неделю наблюдения. К концу эксперимента уровень продуктов ПОЛ в данной группе уже соответствовал исходным значениям, чего нельзя сказать о ВУ животных, у которых относительно высокая интенсивность ПОЛ наблюдалась даже на 35-е сутки наблюдения.

Уровень ОМБ в головном мозге в ходе всего эксперимента претерпевал наибольшие изменения у нерезистентных к гипоксии крыс, которые исходно отличались относительно высоким уровнем МКО-КБ (таблица 14). Далее на всем протяжении восстановительного периода мы наблюдали снижение этого показателя. При этом базальный уровень маркеров ОМБ (как карбонилированных белков, так и битирозина) был повышен в период с первых по 7-е сутки наблюдения и в дальнейшем возвращался к исходному уровню.

Поскольку МКО-ОМБ и РАП характеризуют устойчивость белков к окислению, можно сделать вывод об исходно относительно более высоком антиоксидантом резерве тканей, который обеспечивает стабилизацию интенсивности ОМБ в ЦНС у животных с низкой устойчивостью к гипоксии. Таким образом, исходно более высокая интенсивность кислородного метаболизма обуславливает большую интенсивность ОМБ в условиях постгипоксической адаптации, что компенсируется относительно высоким антиоксидантным резервом ткани.

У высокоустойчивых к гипоксии животных не наблюдалось статистически значимого увеличения ОМБ вплоть до 35 суток. Уровень ОМБ у ВУ животных не только не превышал контрольных значений, но и был статистически значимо снижен уже с третьих суток наблюдения после системной остановки кровообращения. Следовательно, для ВУ к гипоксии животных в постреанима-

ционном периоде характерна высокая устойчивость белков ЦНС к свободнорадикальному окислению на фоне высокого уровня липидной пероксидации.

Таким образом, исходная интенсивность кислородного метаболизма оказывает влияние на постгипоксические проявления окислительного стресса в ЦНС. При этом у ВУ к гипоксии животных свободнорадикальной деструкции подвергаются в большей степени липиды, а у НУ – белки.

Показатели антиоксидантной защиты мозга

Исследование компонентов антиоксидантной защиты показало, что до моделирования экстремальной гипоксии крысы с разной устойчивостью к гипоксии достоверно различались по исходному уровню активности супероксиддисмутазы в ткани мозга: активность СОД была выше у ВУ животных в сравнении со НУ на 18,4% ($p \leq 0,05$) (таблица 15). Статистически значимых различий в исходном содержании каталазы и восстановленного глутатиона у ВУ и НУ мы не обнаружили.

Таблица 15 – Показатели антиоксидантной защиты в ткани мозга крыс с различной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода

Периоды наблюдения	Показатели					
	Супероксиддисмутаза, ед/мг белка		Каталаза, мМ/мин·мг белка		Восстановленный глутатион, мкмоль/г ткани	
	Группы животных					
	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30
контр	17,30±3,32	14,12±3,39 [#]	4,62±0,99	4,47±1,03	2,22±0,51	1,98±0,43
1 сут	13,87±4,12*	4,90±1,42* [#]	6,40±1,47*	11,11±3,36* [#]	1,02±0,26*	1,56±0,43* [#]
3 сут	15,45±3,99	12,63±2,65 [#]	5,90±1,39*	3,65±0,90* [#]	1,17±0,30*	1,91±0,47 [#]
5 сут	18,64±5,14	9,69±2,74* [#]	6,73±1,59*	3,82±0,99* [#]	2,01±0,59	1,97±0,50
7 сут	26,37±5,87*	10,86±3,02* [#]	14,46±3,76*	4,98±1,34 [#]	2,78±0,77*	1,19±0,30* [#]
14 сут	23,02±6,22*	7,76±2,04* [#]	6,86±1,50*	3,68±1,13* [#]	1,80±0,47*	2,02±0,61
21 сут	19,65±4,99*	12,94±3,62 [#]	6,93±2,00*	4,64±1,02 [#]	2,21±0,68	0,84±0,21* [#]
35 сут	18,38±4,77	11,68±2,47* [#]	6,96±1,22*	4,24±1,06 [#]	2,48±0,55	2,35±0,46*
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, p<0.05						

Тяжелая гипоксия привела к снижению активности супероксиддисмутазы у ВУ животных в первые сутки на 20% ($p \leq 0,05$) – это было самое низкое содержание фермента в течение исследования. К пятому дню концентрация фермента восстановилась (108%, $p \leq 0,05$), а к концу недели достигла максимальной отметки, превысив контроль в 1,5 раза ($p < 0,001$). К окончанию эксперимента показатель нормализовался (таблица 15). Животные с низкой устойчивостью к гипоксии ответили на остановку кровообращения выраженным угнетением активности СОД в мозге (до 35% от исходных данных, $p \leq 0,05$), что так же, как и в группе ВУ, соответствовало самому низкому уровню показателя за весь эксперимент. Последовавший затем всплеск активности фермента не привел, тем не менее, к ее полному восстановлению (89% от базисных цифр, $p \leq 0,05$), хотя в динамике наблюдения это и были самые высокие показатели. Все остальное время фиксировалось ингибирование супероксиддисмутазы. Различия между экспериментальными группами были достоверны во все контрольные точки исследования.

Содержание каталазы в мозге в норме невелико [112]. Однако тяжелая гипоксия у животных с высокой устойчивостью к кислородному голоданию вызывала статистически значимое повышение активности фермента на протяжении всех пяти недель эксперимента (таблица 15). Ее пик приходился на 7-е сутки (в 3,1 раза выше контроля, $p \leq 0,05$). В конце эксперимента показатель оставался выше контроля на 51%. В противоположность этому в группе НУ крыс резкий скачок активности фермента отмечался уже в первые сутки наблюдения (до 248% от базального уровня, $p \leq 0,05$), затем следовало его снижение до 82% ($p \leq 0,05$) (таблица 16). В дальнейшем показатель держался примерно на этом уровне, динамика показателя имела нелинейный характер с тенденцией к повышению на 7-е (111% от контрольных цифр) и 21-е сутки (104%). Межгрупповые отличия были значимы во все точки наблюдения.

Существенно, что в условиях дефицита каталазы высокая ферментативная активность СОД может служить причиной развития деструктивных процессов [112], так как образующаяся в процессе реакции дисмутации супероксид-аниона

перекись водорода является более сильным окислителем, чем супероксид-анион, к тому же дает начало высокореакционному гидроксил-радикалу.

Метаболизм восстановленного глутатиона в оппозитных группах также имел свои особенности (таблица 15). Пул GSH у животных устойчивых к гипоксии более значительно снижался в первые контрольные отрезки восстановительном периоде, а у неустойчивых в поздние. Динамика показателя была волнообразной в обеих группах. Самое низкое его значение в группе ВУ отмечалось сразу после воздействия тяжелой гипоксии (46% от контрольного уровня ($p \leq 0,05$), максимально высокое – на 7-е сутки (125%, $p \leq 0,05$). Еще одно статистически значимое снижение до 81% от исходных данных было зафиксировано на 14-е сутки. К окончанию экспериментального периода показатель нормализовался и даже несколько превысил стартовые значения ($p \leq 0,05$). Линия тренда свидетельствовала, в целом, о накоплении восстановленного глутатиона в ткани мозга в течение постгипоксического периода у толерантных к кислородной недостаточности животных.

У крыс с низкой устойчивостью к гипоксии весь период наблюдения, за исключением 35-х суток, концентрация GSH в ткани мозга была либо ниже, либо на контрольном уровне (таблица 15). Минимальные значения были зафиксированы на 7- и 21-е сутки (60% и 42% от исходных данных соответственно, $p \leq 0,05$). В итоге линия тренда продемонстрировала не только отсутствие восстановления содержания восстановленного глутатиона до начальных показателей, но и некоторое его снижение в ходе эксперимента. Межгрупповые отличия не были статистически достоверны в контрольных точках 5-, 14- и 35-е сутки.

Таким образом, уровень антиоксидантной защиты в ткани мозга у ВУ крыс в течение периода наблюдения в целом был выше, чем у НУ животных. Ранняя максимальная мобилизация активности каталазы, не играющей значимой протекторной роли в мозге в силу ее небольшого количества, не смогла компенсировать недостаточность функции прочих компонентов АОЗ в мозге у НУ животных, что клинически проявилось более значительным неврологическим дефицитом и появлением отсроченных нарушений.

5.2. Особенности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в ткани миокарда

Динамика перекисного окисления липидов в миокарде

Накопление вторичных продуктов ПОЛ в гомогенатах ткани сердца крыс с высокой устойчивостью к гипоксии шло волнообразно, периоды повышения сменялись периодами снижения (таблица 16). Так были зарегистрированы 3 скачка содержания ТБК-рп: в 1-е (до 158% от базального уровня, $p \leq 0,05$), на 5-е (185%, $p \leq 0,05$) и 35-е сутки эксперимента (217%, $p \leq 0,05$). В остальные контрольные отрезки, кроме 3-х суток, различия с контролем были также статистически значимы.

Таблица 16 – Содержание ТБК-рп в миокарде крыс с разной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода, в мкМ/г

Периоды наблюдения	Группы животных	
	ВУ	НУ
	М $\pm$ σ, n=30	М $\pm$ σ, n=30
Контроль	1,03 $\pm$ 0,36	1,07 $\pm$ 0,24
1 сутки	1,63 $\pm$ 0,66*	1,04 $\pm$ 0,43 [#]
3 сутки	1,24 $\pm$ 0,51	1,33 $\pm$ 0,18*
5 сутки	1,91 $\pm$ 0,73*	1,22 $\pm$ 0,32* [#]
7 сутки	1,54 $\pm$ 0,67*	1,17 $\pm$ 0,18 [#]
14 сутки	1,48 $\pm$ 0,67*	1,33 $\pm$ 0,34*
21 сутки	1,42 $\pm$ 0,35*	1,89 $\pm$ 0,71* [#]
35 сутки	2,24 $\pm$ 0,55*	1,13 $\pm$ 0,39 [#]
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, $p \leq 0,05$		

Особенность динамики накопления продуктов липопероксидации в ткани сердца низкоустойчивых к гипоксии особей состояла в том, что содержание ТБК-рп оставалось примерно на одном уровне почти на всем протяжении эксперимента, при этом статистически значимо отличаясь от контроля. Исключе-

ние составили 21-е сутки наблюдения, когда показатель вырос до 177% ($p \leq 0,05$). Различия между показателями ВУ и НУ были достоверны в 1-, 5-, 7-, 21- и 35-е сутки. В контрольных группах межгрупповые различия не выявлялись.

Динамика свободнорадикального окисления белков в миокарде

Проявления карбонильного стресса в ткани миокарда в динамике пострессионационного периода не имели особенностей в зависимости от исходного типа кислородного метаболизма: в обеих группах животных наблюдался постепенный прирост ОМБ, а к 35-м суткам наблюдения уровень карбонилированных белков существенно превышал контрольные значения (таблица 17), тогда как в динамике колебаний интенсивности ПОЛ имелись существенные отличия (таблица 16). Таким образом, наиболее выраженным усиление процессов свободнорадикального окисления к окончанию периода наблюдения было в группе ВУ животных, где был зарегистрирован одновременный прирост как продуктов ПОЛ, так и ОМБ. Несмотря на это, РАП, характеризующий устойчивость белков к окислению, почти во все контрольные отрезки времени, исключая 1-е и 35-е сутки, у животных ВУ к гипоксии был статистически значимо выше, чем в оппозитной группе.

Показатели антиоксидантной защиты в миокарде

Анализ показателей ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты выявил более высокие протективные свойства ткани сердца у ВУ животных (таблица 18).

Активность супероксиддисмутазы в первые трое суток была ингибирована у всех опытных крыс, но более значительно у НУ. На протяжении всего восстановительного периода после остановки кровообращения, за исключением 5-х и 21-х суток, мы наблюдали статистически значимое снижение СОД ткани сердца. К концу эксперимента в этой группе крыс активность СОД составила только 88% от уровня контроля ($p \leq 0,05$) (таблица 18).

Таблица 17 – Динамика карбонилирования белков в миокарде в восстановительном периоде после остановки системного кровообращения у крыс с различной устойчивостью к гипоксии

Периоды наблюдения	Показатели							
	КБ, Ед/г белка		КБ-МКО Ед/г белка		БТ Ед/г белка		РАП, %	
	Группы животных							
	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30
контр	14,50±3,41	15,66±3,91	32,41±6,99	30,24±6,46	110,44±12,67	126,82±13,53 [#]	55,3±9,34	48,2±8,79 [#]
1 сут	14,07±3,25	16,20±4,91	27,52±9,30*	25,09±8,55*	128,20±17,89*	120,72±10,51* [#]	48,9±6,29*	35,4±9,75* [#]
3 сут	12,34±4,49*	12,94±3,95*	28,26±6,61*	27,97±5,08	109,74±13,43	122,75±9,42 [#]	56,3±12,32	53,7±12,72
5 сут	12,97±3,31	16,95±6,71 [#]	27,91±8,90*	29,39±7,21	106,16±10,13	123,70±14,33 [#]	53,5±10,17	42,3±11,51 [#]
7 сут	14,18±7,16	17,18±3,92 [#]	31,48±7,59	26,48±8,43 [#]	123,16±12,39*	125,75±15,23	54,9±11,88	35,1±9,38* [#]
14 сут	15,36±3,62	17,92±3,57*	32,60±7,67	33,05±7,49	128,54±11,69*	137,66±12,19* [#]	52,9±12,11	45,8±12,29 [#]
21 сут	16,06±5,03	17,26±3,96	33,58±6,77	28,46±6,73* [#]	126,40±12,31*	148,31±13,55* [#]	52,2±13,59	39,4±9,23* [#]
35 сут	20,11±6,76*	17,64±3,93	39,51±7,52*	38,76±6,85*	150,34±20,62*	130,73±16,23 [#]	49,1±9,32*	54,5±13,62
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, p≤0,05								

В группе ВУ животных после временного снижения активности фермента отмечался его полуторакратный рост, приходящийся на 7-е сутки ($p \leq 0,05$). К окончанию опытного периода показатель вернулся к исходным величинам. Отличия между группами были значимы во всех контрольных точках, кроме 21-х суток.

Каталазная активность существенно возрастала у ВУ крыс и была значимо выше контроля весь опытный период. Наибольшая напряженность этого звена АОЗ отмечалась на 7-14 сутки, когда показатель достиг величины 185-189% от исходных значений. В противоположность этому у неустойчивых к гипоксии животных активность каталазы в течение большей части эксперимента была на 10-15% ниже, либо близка к контролю (таблица 18). Межгрупповые отличия были статистически достоверны во все сроки наблюдения.

Таблица 18 – Показатели антиоксидантной защиты в миокарде крыс с различной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода

Периоды наблюдения	Показатели					
	Супероксиддисмутаза, ед/мг белка		Каталаза, мМ/мин·мг белка		Восстановленный глутатион, мкмоль/г ткани	
	Группы животных					
	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ, М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30
контр	19,54±6,10	17,59±3,39	21,88±5,74	20,11±5,22	4,19±1,00	3,85±1,16
1 сут	13,16±3,39*	10,51±2,56* [#]	24,81±5,91	16,64±4,42* [#]	2,42±0,58*	3,48±0,85 [#]
3 сут	15,39±3,67	9,97±2,36* [#]	28,78±6,67*	18,55±4,59 [#]	6,12±1,47*	3,29±0,85* [#]
5 сут	20,89±4,94*	15,77±4,29 [#]	32,49±9,30*	19,14±4,28 [#]	5,89±1,28*	2,80±0,75* [#]
7 сут	29,38±7,04*	13,03±3,74* [#]	40,46±10,89*	21,13±5,29 [#]	3,25±0,70*	3,45±0,88
14 сут	24,39±5,25*	13,85±3,82* [#]	41,39±11,70*	18,52±4,87 [#]	3,78±0,93	1,90±0,55* [#]
21 сут	20,19±5,10	17,86±4,90	28,31±7,61*	16,32±3,84* [#]	2,13±0,58*	2,10±0,55*
35 сут	20,60±5,03	15,42±3,18* [#]	26,32±6,33*	19,43±4,52 [#]	5,19±1,37*	4,38±0,84* [#]
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, p≤0,05						

Динамика пула восстановленного глутатиона у ВУ особей была нелинейной, статистически значимо отличной от контроля почти весь срок наблюдения. Периоды истощения содержания этого субстрата в 1-, 7- и 21-е сутки сменялись

периодами значительной мобилизации этого механизма антиоксидантной защиты. В конце эксперимента показатель оставался выше базальных величин.

Уровень GSH в клетках сердца низкоустойчивых особей в постгипоксический период снижался постепенно, достигнув «дна» к концу 2-3-е недели (49-55% от контроля, $p \leq 0,05$), а затем повышался, приблизительно достигнув к окончанию эксперимента показателей ВУ животных. Межгрупповые отличия не были достоверны только в контрольный отрезок, соответствующий 21-м суткам.

5.3. Особенности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в ткани легких

Динамика перекисного окисления липидов в ткани легких

Остановка системного кровообращения и последующая реперфузия вызвали постепенное нарастание содержания ТБК-рп, значимое во все сроки наблюдения, в ткани легких крыс с высокой степенью устойчивости к гипоксии (таблица 19).

Таблица 19 – Содержание ТБК-рп в ткани легких крыс с разной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода, в мкМ/г

Периоды наблюдения	Группы животных	
	ВУ	НУ
	М $\pm$ σ, n=30	М $\pm$ σ, n=30
Контроль	1,78 $\pm$ 0,53	1,91 $\pm$ 0,37
1 сутки	2,22 $\pm$ 0,70*	0,96 $\pm$ 0,52* [#]
3 сутки	2,31 $\pm$ 1,10*	1,16 $\pm$ 0,44* [#]
5 сутки	2,56 $\pm$ 0,99*	1,42 $\pm$ 0,74* [#]
7 сутки	3,14 $\pm$ 0,57*	1,68 $\pm$ 0,47* [#]
14 сутки	4,18 $\pm$ 1,25*	1,54 $\pm$ 0,67* [#]
21 сутки	3,61 $\pm$ 0,76*	1,50 $\pm$ 0,61* [#]
35 сутки	2,81 $\pm$ 0,57*	1,77 $\pm$ 0,44 [#]
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, $p \leq 0,05$		

Наблюдался один пик концентрации, в 2,35 раз превышающий контрольные значения ($p \leq 0,05$) и приходящийся на 14 сутки исследования. К моменту завершения эксперимента интенсивность процессов СРО несколько снизилась, однако оставалась достоверно выше контроля (158%, $p \leq 0,05$).

В противоположность этому в оппозитной группе наблюдалось устойчивое подавление ПОЛ (в 2 раза в 1-е сутки, $p \leq 0,05$) вплоть до 21-х суток наблюдения с тенденцией к нормализации на 35-е сутки. Анализ показателей высокоустойчивых и низкоустойчивых к гипоксии животных в сравнительном аспекте выявил достоверные различия между группами во все контрольные отрезки времени ($p \leq 0,05$) (таблица 19).

Динамика свободнорадикального окисления белков в ткани легких

В постгипоксическом периоде выявлены отчетливые изменения в динамике интенсивности ОМБ в ткани легких, зависящие от исходного типа кислородного метаболизма (таблица 20).

Тенденция к разнонаправленным реакциям звеньев свободнорадикального окисления, описанная выше, проявилась и в ткани легких: у ВУ животных в ходе постреанимационного периода преобладали процессы липопероксидации, а у НУ животных – окислительной модификации белков при сохранении реципрокности динамики ПОЛ и ОМБ. В то же время исходный уровень ОМБ не имел статистически значимых отличий между группами животных с различной устойчивостью к гипоксии, за исключением битирозина, содержание которого у НУ крыс было значимо выше (таблица 20).

Динамика уровня ОМБ у НУ к гипоксии животных (карбонилированных белков и битирозина) в ткани легких свидетельствовала о ее существенном усилении, которое сопровождалось снижением резервно-адаптационного потенциала. При этом, как базальный уровень ОМБ, так и металл-катализируемое карбонилирование белков сохранялись на относительно высоком уровне вплоть до окончания периода наблюдения (таблица 20).

Таблица 20 – Динамика карбонилирования белков в легких в восстановительном периоде после остановки системного кровообращения у крыс с различной устойчивостью к гипоксии

Периоды наблюдения	Показатели							
	КБ, Ед/г белка		КБ-МКО Ед/г белка		БТ Ед/г белка		РАП, %	
	Группы животных							
	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ, М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30
контр	11,81±4,26	12,29±4,11	23,46±5,12	25,50±4,42	116,39±10,16	131,75±11,33 [#]	49,72±7,56	51,82±6,49
1 сут	12,52±3,63	13,53±5,26	23,06±6,36	24,24±5,47	166,72±13,48*	151,28±16,58* [#]	45,74±8,42	44,25±7,23*
3 сут	9,66±3,27*	17,60±4,44* [#]	22,30±8,12	30,12±9,07* [#]	86,62±16,21*	136,13±10,16 [#]	56,73±7,94*	41,66±6,67* [#]
5 сут	10,60±3,60	16,61±5,82* [#]	24,78±6,15	34,80±6,36* [#]	105,61±13,47*	211,64±18,63* [#]	57,28±8,24*	52,34±9,44
7 сут	12,05±4,42	16,09±5,45* [#]	26,67±6,24*	31,52±5,49* [#]	121,68±14,29	181,19±12,72* [#]	54,82±6,32	48,93±5,34
14 сут	10,84±2,70	15,74±4,77* [#]	29,99±7,79*	32,31±7,32*	134,44±10,13*	176,25±11,96* [#]	63,85±9,11*	54,18±8,35 [#]
21 сут	12,11±2,76	16,60±5,24* [#]	27,72±8,96*	35,20±12,20* [#]	139,19±14,61*	135,36±13,53	56,31±10,85	52,86±7,93
35 сут	12,53±3,76	14,77±5,43	33,23±8,66*	30,15±6,30*	167,20±15,66*	137,11±10,63 [#]	61,12±6,34*	51,05±9,37 [#]
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, p≤0,05								

Показатели антиоксидантной защиты в ткани легких

Тяжелая гипоксия вызвала значительные отклонения и в системе антиоксидантной защиты легких. Повышение интенсивности процессов липопероксидации у ВУ животных сопровождалось статистически значимым на всем протяжении симметричным повышением активности каталазы с аналогичным максимумом, приходящимся на 14-е сутки (311% от контрольных значений, $p \leq 0,05$) (таблица 21). К концу наблюдения величина показателя приблизилась к нормальной, но оставалась все же выше нее (119%, $p \leq 0,05$).

Таблица 21 – Показатели антиоксидантной защиты в гомогенатах легких крыс с различной устойчивостью к гипоксии в динамике постгипоксического периода

Периоды наблюдения	Показатели					
	Супероксиддимутаза, ед/мг		Каталаза, мМ/мин·мг белка		Восстановленный глутатион, мкмоль/г ткани	
	Группы животных					
	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30
контр	9,50±2,39	9,28±2,24	17,59±4,35	15,93±3,83	5,28±1,55	4,94±1,34
1 сут	9,06±2,03	8,35±1,83	19,85±4,60*	10,03±1,92* [#]	3,54±0,83*	3,63±0,92*
3 сут	8,73±1,97	8,29±1,88	26,54±6,00*	9,20±2,47* [#]	3,81±0,86*	2,78±0,73* [#]
5 сут	8,80±2,85	8,35±2,19	37,12±9,03*	12,00±2,49* [#]	3,33±0,81*	1,93±0,52* [#]
7 сут	8,83±2,23	8,65±2,18	52,32±11,91*	15,54±3,08 [#]	4,97±1,19	3,04±0,66* [#]
14 сут	8,64±1,74	8,26±2,08	54,72±14,11*	22,43±5,20* [#]	2,44±0,62*	3,45±0,80* [#]
21 сут	9,30±2,09	8,67±2,86	31,18±7,72*	13,55±3,76* [#]	3,63±0,91*	2,21±0,53* [#]
35 сут	9,28±2,34	8,66±1,93	21,02±5,11*	15,90±4,26 [#]	4,23±0,94*	2,04±0,48* [#]
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, p≤0,05						

Экстремальное воздействие привело к выраженным изменениям еще одного компонента внутриклеточной антиоксидантной системы – восстановленного глутатиона, являющегося эффективной ловушкой радикалов. В первый контрольный отрезок после пережатия сосудисто-нервного пучка в ткани легких ВУ животных мы наблюдали снижение его содержания на треть от нормы ($p \leq 0,05$), которое стабильно держалось до 5-х суток (таблица 21).

Ситуация начала меняться только на 7-й день: уровень GSH начал расти, но не достигнув базисных показателей (98%, $p \leq 0,05$), вновь начал падать и к концу второй недели достиг минимального значения – 46% от уровня контроля ($p \leq 0,05$). К концу эксперимента содержание восстановленного глутатиона составило только 80% от нормы ($p \leq 0,05$).

Животные с низкой устойчивостью к гипоксии отметились более значительным поражением антиоксидантной защиты (таблица 21). Так каталазная активность у них была ингибирована на протяжении почти всего постгипоксического периода, исключение составило кратковременное повышение в 1,4 раза ($p \leq 0,05$), зафиксированное на 14-е сутки. Нормализация показателя произошла к концу эксперимента. Различия между группами ВУ и НУ были статистически значимы во все сроки наблюдения.

До моделирования остановки кровообращения пул восстановленного глутатиона в клетках легких у животных НУ на 6,4% был ниже, чем у ВУ ($p \leq 0,05$) (таблица 21). Начиная с первых суток постгипоксического периода содержание GSH прогрессивно снижалось, и степень его снижения в группе НУ была более выражена, чем у ВУ – статистически значимые отличия выявлялись во все сроки, кроме первых суток ($p \leq 0,05$). Исключение составили 14-е сутки: в этот период показатели НУ животных были выше, чем в оппозитной группе. Однако это был небольшой, а главное, непродолжительный подъем, так как и в конце эксперимента пул GSH в клетках легких не превышал 40% от контроля.

А вот активность супероксиддисмутазы, катализирующей реакцию дисмутации супероксид-аниона, в ткани легких обеих групп крыс оказалась достаточно устойчивой к воздействию патогенных факторов гипоксии: мы наблюдали только тенденцию к снижению активности фермента без статистически значимых отличий от контроля (таблица 21).

Таким образом, большая активность процессов липопероксидации у животных с высокой устойчивостью к гипоксии сопровождалась большей сохранностью антиоксидантных механизмов.

5.4. Особенности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в гомогенатах ткани почек

Динамика перекисного окисления липидов в ткани почек

Исходная активность процессов ПОЛ по уровню накопления ТБК-рп в группах ВУ и НУ животных не различалась (таблица 22).

Таблица 22 – Содержание ТБК-рп в гомогенатах почек крыс с разной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода, в мкМ/г ткани

Периоды наблюдения	Группы животных	
	ВУ	НУ
	М±σ, n=30	М±σ, n=30
Контроль	2,28±0,83	2,14±0,44
1 сутки	2,16±0,63	3,12±0,75* [#]
3 сутки	3,08±1,44*	2,41±0,68 [#]
5 сутки	4,14±2,04*	2,61±0,46* [#]
7 сутки	3,39±1,18*	3,21±0,61*
14 сутки	3,52±1,36*	2,91±0,52* [#]
21 сутки	2,79±0,78*	4,53±1,56* [#]
35 сутки	4,35±0,63*	4,02±1,18*
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, p≤0,05		

После моделирования остановки кровообращения при анализе биохимических показателей гомогенатов почек было установлено изменение накопления ТБК-активных продуктов в различной степени в обеих экспериментальных группах. В группе ВУ животных в первые сутки после воздействия отмечалась тенденция к снижению показателя (95% от контроля), которая сменилась статистически значимым повышением на 3-и (135%, p≤0,05) и 5-е сутки (182%, p≤0,05). Далее вплоть до 21-х суток содержание ТБК-рп уменьшалось до 122%,

сохраняя статистически значимое отличие от контроля. Наибольшее значение показателя отмечено к концу периода наблюдения (191%, $p \leq 0,05$).

У животных НУ к гипоксии направленность изменений была другой и статистически значимой во все сроки, кроме 3-х ($p \leq 0,05$) (таблица 22). В первые сутки был отмечен рост активности процессов ПОЛ в 1,5 раза. Далее мы наблюдали тенденцию к снижению ТБК-рп до 113% от контроля, которая с 5-х суток сменилась достоверным повышением. Самые высокие значения показателя превышали базовые примерно в 2 раза и были зарегистрированы на 21-е сутки ($p \leq 0,05$).

Таким образом, активность процессов липопероксидации была наиболее выражена у НУ, имела в динамике нелинейный характер с максимумом на 21-е сутки. Восстановления уровня ТБК-рп к концу периода наблюдения не произошло ни в одной из групп, он оставался в 1,9 раза выше контроля, не зависимо от степени устойчивости к гипоксии. Полученные нами данные не противоречат литературным [187].

Динамика свободнорадикального окисления белков в почках

Высокая чувствительность почек к гипоксии и нарушениям гемодинамики закономерно отразилась на процессах свободнорадикального окисления в постреанимационном периоде. Общая тенденция, характерная как для ВУ, так и для НУ животных – существенное усиление липопероксидации и окислительной модификации белка (таблица 22, 23).

И если исходный уровень ТБК-рп не имел статистически значимых отличий между группами животных с различной устойчивостью к гипоксии, то на особенности исходного уровня окислительной модификации белков оказывали влияние базальные характеристики аэробного метаболизма: НУ животные имели более высокий уровень ОМБ в сравнении с ВУ, что проявлялось относительно большим уровнем белковых карбонилов и битирозина.

Таблица 23 – Динамика карбонилирования белков в почках в восстановительном периоде после остановки системного кровообращения у крыс с различной устойчивостью к гипоксии

Периоды наблюдения	Показатели							
	КБ, Ед/г белка		КБ-МКО Ед/г белка		БТ Ед/г белка		РАП, %	
	Группы животных							
	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30
контр	6,67±2,88	8,07±2,76 [#]	13,26±4,26	26,71±6,53 [#]	51,48±11,90	65,11±10,58 [#]	49,7±10,43	69,8±10,97 [#]
1 сут	9,90±2,81*	10,81±3,40*	18,60±6,41*	26,73±6,54 [#]	50,15±12,66	67,28±12,82 [#]	46,8±9,03	59,6±11,62 [#]
3 сут	8,42±2,98*	11,10±3,12* [#]	29,93±8,86*	22,30±7,30* [#]	26,70±8,53*	71,01±15,15 [#]	71,9±13,76*	50,2±10,86* [#]
5 сут	8,27±3,68	9,17±3,27	30,46±9,88*	20,18±6,48* [#]	25,17±7,20*	59,71±11,31 [#]	72,8±11,42*	54,6±11,19* [#]
7 сут	7,24±3,33	10,38±3,28* [#]	29,59±9,80*	22,45±5,99* [#]	29,72±8,48*	61,58±10,74 [#]	75,5±12,56*	53,8±12,23* [#]
14 сут	8,14±3,78	9,74±3,05*	29,19±8,85*	28,45±7,80 [#]	41,06±12,78*	59,62±11,32 [#]	72,1±11,52*	65,8±13,69
21 сут	7,24±3,33	9,93±3,98* [#]	17,42±6,38*	28,42±7,79 [#]	40,47±11,36*	72,24±15,19* [#]	58,4±10,31*	65,1±12,13
35 сут	6,59±2,45	8,99±3,17 [#]	18,04±6,29*	22,78±6,08* [#]	45,39±11,12*	71,20±15,29 [#]	63,5±12,92*	60,5±14,55
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, p≤0,05								

Следует отметить, что эти особенности окислительного метаболизма белков сопровождались исходно более высоким резервно-адаптационным потенциалом, что свидетельствует об относительно более высоком антиоксидантом резерве тканей НУ животных. Тем не менее, перенесенное критическое состояние привело к значительному снижению РАП, тогда как у ВУ животных наблюдалась обратная картина.

Указанные отличия в уровне ОМБ у НУ животных сохранялись в течение всего периода наблюдения. При этом уровень маркеров ОМБ (как карбонилированных белков, так и битирозина) превышал значения соответствующих показателей животных с высокой устойчивостью к гипоксии. Кроме того, для ВУ к гипоксии животных характерна нормализация процессов ОМБ на поздних сроках наблюдения: уровни карбонилированных белков и битирозина на 21-е и 35-е сутки наблюдения статистически значимо не отличались от контрольного уровня. Более того, уровень БТ в почках в ВУ животных с 3-го по 7-е сутки исследования был несколько ниже, а у НУ животных стабильно сохранялся на уровне, превышающем контрольные значения вплоть до окончания эксперимента.

Как видим, на поздних сроках наблюдения в почках выявляются проявления окислительного стресса, которые варьируют в зависимости от генетически детерминированных особенностей аэробного метаболизма. У ВУ животных окислительный стресс проявляется только усилением липопероксидации. У НУ к гипоксии животных на поздних сроках постреанимационного периода в почках сохраняются высокие уровни как продуктов ПОЛ, так и ОМБ.

Таким образом, для НУ к гипоксии животных характерны признаки карбонильного стресса в почках, сохраняющиеся вплоть до окончания наблюдения. Высокая скорость кислород-зависимых процессов у данной категории животных может вносить существенный вклад в повреждение почек в постреанимационном периоде, повышая риск развития острой почечной недостаточности.

Показатели антиоксидантной защиты в ткани почек

Уровень функционирования защитных систем в клетках тканей почек в оппозиционных группах в динамике постгипоксического периода также имел определенные особенности.

Активность СОД в период 1-14-е сутки статистически значимо подавлялась у всех экспериментальных животных, однако степень снижения была более выраженной у НУ (таблица 24). Минимум показателя в обеих группах определялся в первые сутки (ВУ 64%, НУ 43% от уровня контроля), затем шло его постепенное восстановление и нормализация к концу периода наблюдения.

Таблица 24 – Показатели антиоксидантной защиты в гомогенатах почек крыс с различной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода

Периоды наблюдения	Показатели					
	Супероксиддисмутаза, ед/мг белка		Каталаза, мМ/мин·мг белка		Восстановленный глутатион, мкмоль/г ткани	
	Группы животных					
	ВУ, М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ, М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ, М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30
контр	28,92±7,88	23,86±5,61	20,01±5,09	15,66±3,56 [#]	2,39±0,52	1,69±0,49 [#]
1 сут	18,53±4,56*	10,16±2,51* [#]	24,02±5,64*	10,02±2,62* [#]	4,20±1,04*	0,66±0,16* [#]
3 сут	17,70±5,23*	11,42±2,90* [#]	30,26±7,36*	8,42±2,26* [#]	4,46±0,94*	2,78±0,62* [#]
5 сут	21,03±5,67*	12,40±3,07* [#]	26,09±5,76*	12,76±3,03* [#]	2,54±0,64	2,02±0,46* [#]
7 сут	20,49±4,95*	14,34±3,59* [#]	29,68±7,11*	19,11±5,20* [#]	3,69±1,03*	1,90±0,48 [#]
14 сут	22,67±4,89*	16,71±3,88* [#]	23,20±5,52*	15,48±3,24 [#]	2,78±0,76*	0,92±0,18* [#]
21 сут	26,63±5,63	23,11±5,90 [#]	21,65±5,37	14,24±2,71 [#]	2,05±0,57*	0,97±0,26* [#]
35 сут	29,90±6,69	22,86±5,77 [#]	20,30±4,19	16,40±4,27 [#]	2,65±0,59	3,12±0,88*
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, p<0,05						

Активность каталазы в гомогенатах почек у крыс с высокой устойчивостью к гипоксии после реперфузии резко значимо повышалась (120%, p≤0,05), к концу 3-их суток достигала 151% от контроля (p≤0,05) и держалась на высоких цифрах до конца второй недели наблюдения, затем начинала снижаться (таблица 24). Животные неустойчивые к гипоксии реагировали на перенесенную гипоксию значимым снижением активности каталазы в первые 5 суток. Минимум

у НУ наблюдался на 3-и сутки (54%, $p \leq 0,05$). На 7-е сутки регистрировалось некоторое усиление каталазной активности (до 120%), это были максимальные значения за весь период наблюдения. В конце эксперимента активность фермента восстанавливалась до исходных значений в обеих опытных группах.

Содержание восстановленного глутатиона у неустойчивых к гипоксии животных в первые сутки эксперимента резко (в 3 раза) падало ($p \leq 0,05$), что представляется вполне закономерным, учитывая исходно низкий резерв глутатиона в клетках почек этих животных в контроле (таблица 24), тогда как в группе высокоустойчивых, напротив, показатель значительно повышался (до 176%, $p \leq 0,05$). На 3-и сутки у НУ крыс была зарегистрирована кратковременная мобилизация механизмов антиоксидантной защиты, что может быть обусловлено фазным характером гемодинамики после реперфузии [182]: содержание восстановленного глутатиона стало значимо выше нормы и НУ 164% ($p \leq 0,05$). На протяжении следующих дней наблюдения вплоть до 21 суток снижение уровня восстановленного глутатиона отмечалось в той или иной степени в обеих группах. К 35-м суткам в группе ВУ показатель подошел к контрольным цифрам, а в группе НУ стал их превышать в 1,8 раза ($p \leq 0,05$).

Таким образом, в первые трое суток у этих животных страдают и неферментативное (глутатион), и ферментативное (каталаза) звенья антиоксидантной защиты. Хотя каталаза является ферментом, достаточно устойчивым к нарушениям свободнорадикального гомеостаза [49], тяжелое гипоксическое воздействие на животных с исходно низким уровнем каталазы вызывает критическое снижение ее активности. На 3-и сутки на фоне снижения каталазы адаптационно-приспособительная реакция осуществляется за счет напряжения неферментативного глутатионового звена.

5.5. Особенности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в ткани печени

Динамика перекисного окисления липидов в ткани печени

Активность процессов ПОЛ по уровню накопления ТБК-рп была статистически значимо выше у животных с высокой устойчивостью к гипоксии во все исследованные отрезки времени, включая контрольный ($p \leq 0,05$) (таблица 25). В этой группе мы наблюдали значительный рост показателя, начиная уже с первых суток (до 129% от контроля, $p \leq 0,05$). Максимум его определялся на 7-е сутки (163%, $p \leq 0,05$), после чего регистрировалось постепенное снижение к концу наблюдения. Тем не менее уровень ТБК-рп у ВУ крыс на 35-е сутки превышал контрольные цифры в 1,2 раза.

Таблица 25 – Содержание ТБК-рп в гомогенатах печени крыс с разной устойчивостью к гипоксии в динамике постгипоксического периода, в мкМ/г

Периоды наблюдения	Группы животных	
	ВУ	НУ
	М $\pm$ σ, n=30	М $\pm$ σ, n=30
Контроль	2,58 $\pm$ 0,58	1,94 $\pm$ 0,27 [#]
1 сутки	3,32 $\pm$ 1,27*	0,74 $\pm$ 0,35* [#]
3 сутки	3,19 $\pm$ 0,86*	0,84 $\pm$ 0,29* [#]
5 сутки	3,27 $\pm$ 1,07*	0,99 $\pm$ 0,40* [#]
7 сутки	4,20 $\pm$ 1,50*	0,97 $\pm$ 0,37* [#]
14 сутки	3,93 $\pm$ 1,35*	1,14 $\pm$ 0,29* [#]
21 сутки	3,32 $\pm$ 0,70*	1,35 $\pm$ 0,38* [#]
35 сутки	3,18 $\pm$ 0,63*	1,50 $\pm$ 0,45* [#]
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, $p \leq 0,05$		

В группе сравнения отмечалась почти зеркально противоположная картина. Моделирование гипоксии приводило к резкому падению активности процессов ПОЛ, что нашло выражение в статистически значимом снижении содержа-

ния ТБК-рп в печени НУ особей на всем протяжении постгипоксического периода. Минимальное значение показателя определялось в первые сутки опыта: 38% от уровня контроля ($p \leq 0,05$). В последующие дни, несмотря на некоторое увеличение активности липопероксидации, показатели оставались ниже уровня контрольных.

Таким образом, наши данные свидетельствуют о большей активности процессов липопероксидации в ткани печени высокоустойчивых к гипоксии животных, как в контроле, так и в эксперименте.

Динамика свободнорадикального окисления белков в печени

Динамика ОМБ в печени, в отличие от липопероксидации, имела обратную зависимость, которая обнаруживалась уже в контрольных группах: исходные уровни карбонилированных белков (как базальные, так и в ответ на индукцию) у НУ крыс были статистически значимо выше (таблица 26). В первые же сутки после критического воздействия и реанимации уровень КБ у НУ особей вырос почти в 1,5 раза, а к окончанию первой недели наблюдения в два раза. Индуцированное карбонилирование в этой группе было также достоверно выше, чем в оппозитной, что закономерным следствием имело резкое снижение резервно-адаптационного потенциала.

У ВУ крыс, напротив, статистически значимых изменений ОМБ в ходе постреанимационного периода на базальном уровне не было выявлено вообще, а при индукции только в сроки 3-14 сутки (таблица 26). Эти изменения сопровождались постепенным увеличением резервно-адаптационного потенциала, который в период 3-35 сутки статистически значимо превышал аналогичный показатель НУ крыс.

Динамика накопления белков с битирозиновыми сшивками хотя и не повторяла динамики изменения КБ и КБ-МКО, но при этом изменения в группах были значимы почти во все сроки наблюдения, а межгрупповые различия были статистически достоверны в период 3-21-е сутки.

Таблица 26 – Динамика карбонилирования белков в печени в восстановительном периоде после остановки системного кровообращения у крыс с различной устойчивостью к гипоксии

Периоды наблюдения	Показатели							
	КБ, Ед/г белка		КБ-МКО Ед/г белка		БТ Ед/г белка		РАП, %	
	Группы животных							
	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30
контр	15,23±3,42	28,05±4,58 [#]	21,78±6,93	45,41±8,37 [#]	101,16±19,87	103,99±2,29	30,1±7,62	38,2±9,75 [#]
1 сут	13,81±5,12	41,11±6,88 ^{*#}	20,34±7,28	68,77±17,91 ^{*#}	116,85±18,89	119,53±1,45 [*]	32,1±8,32	40,2±10,51 [#]
3 сут	16,47±4,86	45,06±8,90 ^{*#}	44,51±12,66 [*]	84,37±18,32 ^{*#}	79,77±11,45 [*]	91,46±3,10 ^{*#}	63,0±12,39 [*]	46,6±12,18 ^{*#}
5 сут	18,21±4,87	48,25±8,66 ^{*#}	40,81±15,10 [*]	77,67±13,00 ^{*#}	51,86±10,05 [*]	87,91±1,92 ^{*#}	55,4±11,18 [*]	37,9±11,32 [#]
7 сут	17,28±4,36	56,06±11,69 ^{*#}	44,08±12,66 [*]	64,81±17,97 ^{*#}	73,86±18,39 [*]	98,31±3,02 [#]	60,8±20,15 [*]	13,5±5,84 ^{*#}
14 сут	16,93±5,36	53,49±9,71 ^{*#}	46,37±8,40	55,52±12,14 ^{*#}	86,22±19,07 [*]	69,73±3,01 ^{*#}	63,5±19,76 [*]	3,6±1,43 ^{*#}
21 сут	14,86±3,86	40,16±7,33 ^{*#}	26,34±10,37	57,69±10,31 ^{*#}	109,68±19,48	118,60±3,43 ^{*#}	43,6±10,14 [*]	30,4±12,69 [#]
35 сут	15,51±3,88	34,45±7,10 ^{*#}	24,32±10,31	44,55±12,84 [#]	128,30±20,63 [*]	127,20±3,51 [*]	36,2±11,26	22,7±10,08 ^{*#}
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, # – статистически значимые отличия от группы ВУ, p≤0,05								

Возможно, относительная сохранность липидов у НУ крыс обусловлена большей емкостью липофильной антиоксидантной защиты, что, в конечном счете, способствовало трансдукции процессов СРО на белки и отразилось на особенностях динамики оксидативного стресса в печени. Наши данные не противоречат ранее опубликованным результатам исследований особенностей СРО в печени у животных с разной устойчивостью к гипоксии [38; 88; 135].

Показатели антиоксидантной защиты печени

Уровень антиоксидантной защиты в ткани печени в группе ВУ крыс, согласно нашим исследованиям, изначально оказался выше, чем в оппозитной группе (таблица 27). Так, у животных толерантных к кислородной недостаточности контрольные показатели активности СОД были выше на 12,5% ($p \leq 0,05$), каталазы на 15% ($p \leq 0,05$), содержания восстановленного глутатиона на 23,7% ($p \leq 0,05$).

АОЗ в опытных группах в динамике постгипоксического периода также имела значительные отличия (таблица 27).

В первые сутки после моделирования остановки кровообращения активность супероксиддисмутазы статистически достоверно снижалась в обеих группах, однако степень угнетения была больше у НУ крыс. В последующем у ВУ животных мы наблюдали постепенное нарастание активности фермента; к концу эксперимента его активность почти восстановилась до базальных значений.

А вот линия тренда этого показателя у НУ особой свидетельствовала о его снижении в динамике исследования: на протяжении почти всего периода наблюдения активность СОД была значительно ингибирована и держалась на уровне 40-60% от контрольного ($p \leq 0,05$). Отличия были статистически значимы и между группами сравнения (таблица 27).

Анализ динамики активности каталазы в ткани печени так же выявил статистически значимые отличия между группами ВУ и НУ на всем протяжении эксперимента (таблица 27).

Тяжелая гипоксия вызвала значительную статистически достоверную активацию фермента у ВУ крыс, которая держалась весь период наблюдения.

Лишь на 3-и сутки регистрировалось кратковременное снижение показателя до нормы, вызванное, вероятно, его высоким расходом в 1-е сутки восстановительного периода.

Таблица 27 – Показатели антиоксидантной защиты в ткани печени крыс с различной устойчивостью к гипоксии в динамике постгипоксического периода

Периоды наблюдения	Показатели					
	Супероксиддисмутаза, ед/мг белка		Каталаза, мМ/мин·мг белка		Восстановленный глутатион, мкмоль/г ткани	
	Группы животных					
	ВУ, М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ, М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ, М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30
контр	34,10±8,79	29,85±6,95 [#]	8,73±0,29	7,43±0,28 [#]	8,56±1,80	6,57±1,64 [#]
1 сут	18,95±4,19*	14,85±3,50* [#]	12,26±0,68*	5,28±0,35* [#]	7,28±1,48*	3,62±1,00* [#]
3 сут	26,03±7,97*	12,49±2,80* [#]	8,23±0,32	4,37±0,39* [#]	10,39±2,68*	3,07±0,76* [#]
5 сут	23,33±5,45*	15,92±3,90* [#]	13,62±1,21*	5,40±0,36* [#]	9,00±2,13	3,60±0,94* [#]
7 сут	24,85±6,01*	12,22±3,33* [#]	14,78±0,65*	5,91±0,42* [#]	7,22±1,74*	3,05±0,79* [#]
14 сут	30,93±6,83	18,27±4,87* [#]	13,06±0,88*	6,87±0,38 [#]	6,49±1,59*	1,76±0,32* [#]
21 сут	24,56±5,66*	17,70±3,67* [#]	14,76±0,83*	5,69±0,49* [#]	7,75±2,03	2,85±0,82* [#]
35 сут	32,11±8,33	23,01±5,55* [#]	13,78±0,62*	7,30±0,47 [#]	9,13±1,89	3,72±1,03* [#]
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, p<0,05						

Несмотря на то, что в организме человека и животных содержание каталазы в ткани печени в физиологических условиях очень высоко, у крыс с фенотипом низкой устойчивости к кислородной недостаточности экстремальная гипоксия вызвала глубокое угнетение активности каталазы, наиболее выраженное на 3-и сутки (59% от исходных значений). Тем не менее, постепенный рост показателя, наблюдаемый в динамике, привел к его нормализации к концу эксперимента. Межгрупповые отличия были статистически достоверны во всех контрольных точках (таблица 27).

Оценка динамики пула восстановленного глутатиона в клетках печени показала прогрессирующее его снижение в группе НУ вплоть до 14-х суток, когда регистрировались минимальные значения (27% от уровня контроля, p≤0,05). В

последние недели эксперимента содержание GSH хотя и несколько выросло, но составило только 43-57% от исходных цифр ($p \leq 0,05$).

В группе ВУ крыс динамика содержания восстановленного глутатиона была нелинейной: периоды статистически достоверного снижения его концентрации (1-е и 14-е сутки – 85% и 76% соответственно, $p \leq 0,05$) сменялись периодами значимого повышения (3-и сутки, 121%, $p \leq 0,05$). К концу опыта пул GSH в ткани печени ВУ особей соответствовал контрольным величинам.

Таким образом, наше исследование показало, что устойчивость к гипоксии сопровождается повышением активности липопероксидации и антиоксидантной защиты в ткани печени на фоне относительно низкого уровня окислительной модификации белков как в контроле, так и после моделирования экстремальной гипоксии.

5.6. Особенности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в крови крыс

Динамика перекисного окисления липидов в плазме крови

До моделирования системной остановки кровообращения крысы с разной устойчивостью к гипоксии достоверно отличались по степени активности свободнорадикальных процессов в плазме крови, оцениваемых по уровню накопления их вторичных метаболитов: в контрольной группе ВУ крыс содержание ТБК-рп было на 35% выше ($p \leq 0,05$), чем в оппозитной (таблица 28). Более высокая активность процессов СРО у животных с высокой резистентностью к гипоксии была характерна почти для всего восстановительного периода после перенесенной глобальной ишемии.

В первые сутки после ишемии-реперфузии уровень ТБК-рп составил 233% от контроля ($p \leq 0,05$), на 3-и сутки отмечался максимум их накопления 375% ($p \leq 0,05$). После некоторого снижения активности СРО на 5-7-е сутки до 270-280% от начальных значений на 14-21-е сутки наблюдался новый подъем.

Содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, достигло 370-345% от уровня исходных показателей ($p \leq 0,05$). К концу эксперимента, несмотря на снижение, концентрация в плазме крови ТБК-рп продолжала превышать контрольные цифры более чем в 2,5 раза ($p \leq 0,05$).

Таблица 28 – Содержание ТБК-рп в плазме крови крыс с разной устойчивостью к гипоксии в динамике постгипоксического периода, в мкМ/г

Периоды наблюдения	Группы животных	
	ВУ	НУ
	М $\pm$ σ, n=30	М $\pm$ σ, n=30
Контроль	0,69 $\pm$ 0,38	0,51 $\pm$ 0,28 [#]
1 сутки	1,61 $\pm$ 0,76*	0,58 $\pm$ 0,0,27 [#]
3 сутки	2,59 $\pm$ 1,10*	1,01 $\pm$ 0,48* [#]
5 сутки	1,85 $\pm$ 1,11*	0,82 $\pm$ 0,43* [#]
7 сутки	1,93 $\pm$ 1,07*	1,23 $\pm$ 0,73* [#]
14 сутки	2,55 $\pm$ 0,92*	0,83 $\pm$ 0,46* [#]
21 сутки	2,38 $\pm$ 0,91*	1,41 $\pm$ 0,65* [#]
35 сутки	1,84 $\pm$ 0,63	1,76 $\pm$ 0,76*
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, $p \leq 0,05$		

У животных с низкой устойчивостью к гипоксии тенденция к повышению ТБК-рп, наблюдаемая в первые сутки, сменялась постепенным достоверным волнообразным ростом их накопления. На 21-е сутки содержание вторичных метаболитов СРО выросло до 280%, а на 35-е достигло максимума, который в 3,5 раза был выше исходных значений. Различия между группами ВУ и НУ были значимы во все контрольные отрезки, кроме 35 суток.

Таким образом, после перенесенной тяжелой гипоксии интенсивность липопероксидации статистически значимо была выше в группе ВУ животных с тенденцией к нормализации в конце наблюдения. В оппозитной группе активность изучаемых процессов нарастала к окончанию эксперимента.

Динамика карбонилирования белков в плазме крови

При анализе данных, полученных при исследовании плазмы крови животных контрольных групп, установлено, что высокоустойчивые к гипоксии животные исходно отличались относительно меньшим уровнем окислительной модификации белков (таблица 29). Уровни базального (КБ) и металл-катализируемого карбонилирования, содержания битирозина у этих крыс были статистически значимо ниже, чем в оппозитной группе соответственно на 41, 33,5 и 14% ($p \leq 0,05$). Таким образом, животные с низкой интенсивностью кислородного метаболизма (высокоустойчивые) отличаются меньшей интенсивностью карбонилирования белков плазмы крови.

Тяжелая гипоксия, вызванная остановкой системного кровообращения, закономерно сопровождалась развитием окислительного стресса: на протяжении всего периода наблюдения (35 суток с момента системной остановки кровообращения) в плазме крови наблюдались существенные изменения уровней продуктов свободнорадикального окисления белков.

У высокоустойчивых к гипоксии животных, исходно отличавшихся низким уровнем ОМБ плазмы крови, не наблюдалось его существенных колебаний вплоть до 35 суток. Уровень ОМБ у ВУ животных не только не превышал контрольных значений, но и был статистически значимо снижен с 3-их по 7-е сутки наблюдения (по содержанию битирозина). Таким образом, для ВУ к гипоксии животных в постреанимационном периоде характерна более высокая устойчивость белков плазмы крови к свободнорадикальному окислению на фоне высокого уровня липидной пероксидации.

Животные НУ к гипоксии, напротив, демонстрировали большие уровни ОМБ на фоне относительно низких значений ПОЛ. При этом показатели, характеризующие как карбонилирование, так и образование битирозина, в несколько раз (статистически значимо) превышали соответствующие значения в группе ВУ к гипоксии животных.

Таблица 29 – Динамика карбонилирования белков в плазме крови в восстановительном периоде после остановки системного кровообращения у крыс с различной устойчивостью к гипоксии

Периоды наблю- дения	Показатели							
	КБ, Ед/г белка		МКО-КБ Ед/г белка		БТ Ед/г белка		РАП, %	
	Группы животных							
	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30
контр	10,65±3,16	17,95±5,23 [#]	43,66±14,85	65,69±18,59 [#]	136,58±24,61	159,37±25,61 [#]	75,6±13,24	72,7±16,64
1 сут	5,94±3,32*	26,74±6,46* [#]	47,82±17,51	91,24±22,84* [#]	125,84±21,04*	203,54±27,95* [#]	87,6±18,42*	70,7±20,41 [#]
3 сут	10,59±3,13	26,20±6,14* [#]	48,42±18,23	110,32±27,12* [#]	102,97±24,29*	213,43±28,55* [#]	78,1±23,54	76,3±27,13
5 сут	13,20±4,22*	27,10±6,76* [#]	56,09±23,47*	104,86±21,11* [#]	101,77±24,50*	252,47±29,98* [#]	76,5±24,12	74,2±25,34
7 сут	7,95±3,00*	23,46±5,56* [#]	53,33±19,51*	112,77±28,05* [#]	103,68±19,57*	292,74±31,35* [#]	85,1±25,42*	79,2±19,28* [#]
14 сут	9,37±3,32	24,73±6,41* [#]	40,87±17,21	105,66±25,78* [#]	142,24±24,89	302,46±32,35* [#]	77,1±23,68	76,6±26,76
21 сут	9,46±3,40	27,21±6,68* [#]	45,45±18,14	109,20±28,44* [#]	138,00±31,94	300,75±30,94* [#]	79,2±18,42	74,5±27,89
35 сут	13,54±4,27*	24,38±8,10* [#]	47,29±22,00	110,11±23,25* [#]	151,39±34,56*	301,84±43,00* [#]	71,4±24,62*	77,9±15,45* [#]
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы, # – статистически значимые отличия от группы ВУ, p≤0,05								

Динамика резервно-адаптационного потенциала (РАП), характеризующего устойчивость белков к действию экзогенных окислителей *in vitro*, также свидетельствовала о большей емкости антиоксидантных систем у животных с высокой устойчивостью к гипоксии. Во все контрольные отрезки времени этот показатель, определяемый соотношением базального уровня КБ и КБ-МКО, в группе толерантных крыс был выше.

Показатели антиоксидантной защиты крови

Изучение компонентов внеклеточной и внутриклеточной антиоксидантной защиты крови животных с разным фенотипом устойчивости к гипоксии выявило ряд особенностей.

В контрольных показателях глутатионпероксидазы плазмы крови статистически значимых отличий между ВУ и НУ не было (таблица 30). В первые сутки после моделирования тяжелой гипоксии в обеих группах наблюдалось снижение активности фермента на 35-37% ($p \leq 0,05$) от исходных значений. На третьи сутки межгрупповые различия становились явными: у ВУ крыс параметр продолжал снижаться (до 42% от уровня контроля, $p \leq 0,05$), у НУ повышался (до 82%, $p \leq 0,05$). Однако дальнейшее исследование показало, что в группе НУ животных показатель так и не достиг базисных цифр, хотя и приблизился к ним в последний контрольный отрезок.

В группе ВУ после уже отмеченного угнетения активности фермента в первые-третьи сутки последовал постепенный ее подъем. К концу эксперимента значения глутатионпероксидазы уже были сопоставимы с контрольными.

Контрольные показатели глутатионтрансферазы плазмы крови в оппозитных группах также не имели статистически значимых отличий.

Более того, до пятых суток включительно динамика фермента в обеих группах была почти идентична, с минимальными межгрупповыми различиями на 3-и сутки ($p \leq 0,05$) (таблица 30).

Таблица 30 – Показатели антиоксидантной защиты крови в восстановительном периоде после остановки системного кровообращения у крыс с различной устойчивостью к гипоксии

Показатели	Глутатионпероксидаза плазмы, Ед/л		Глутатионтрансфераза плазмы, нг/л		Каталаза плазмы, мМ/мин·мг		Общая антиоксидантная активность, ммоль/л	
Периоды наблюдения	Группы животных							
	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30
контр.	72,01±19,16	76,42±17,19	407,90±108,12	395,73±109,53	4,93±1,34	4,60±1,19	2,22±0,55	1,91±0,48 [#]
1 сут	45,03±11,53*	49,81±14,93*	668,43±164,65*	602,57±159,13*	4,63±1,12	3,49±0,85* [#]	1,51±0,34*	1,18±0,28* [#]
3 сут	34,95±8,63*	62,52±15,08* [#]	398,07±101,69	328,63±80,48* [#]	6,24±1,32*	2,89±0,69* [#]	1,42±0,40*	1,41±0,36*
5 сут	61,57±14,24*	60,71±16,19*	642,13±143,56*	614,97±156,62*	3,17±0,73*	1,43±0,38* [#]	1,61±0,44*	1,21±0,30* [#]
7 сут	71,45±16,83	70,07±16,32	1098,57±300,52*	586,83±157,56* [#]	4,21±1,02*	2,91±0,70* [#]	1,54±0,39*	1,36±0,33*
14 сут	65,27±15,55	54,23±12,23* [#]	597,20±139,41*	330,37±79,94* [#]	4,37±1,18	4,03±1,20	1,81±0,37*	1,35±0,30* [#]
21 сут	82,20±22,19	70,82±15,54 [#]	285,83±65,82*	492,97±113,12* [#]	3,67±0,93*	1,76±0,47* [#]	1,48±0,31*	1,24±0,35* [#]
35 сут	76,81±17,73	72,76±15,46	295,23±87,29*	340,60±69,31* [#]	2,51±0,67*	1,44±0,34* [#]	2,04±0,51	1,73±0,38 [#]
Примечание: *– статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, p≤0,05								

Однако у животных толерантных к гипоксии к концу первой недели отмечался резкий скачок активности фермента (в 2,7 раза выше исходных данных, $p \leq 0,05$), за которым последовал прогрессирующий спад с минимальными значениями показателя на 21-е и 35-е сутки (до 70 и 72% соответственно, $p \leq 0,05$).

В группе животных неустойчивых к гипоксии содержание глутатионтрансферазы не поднималось более чем в 1,5 раза (на пятые сутки, $p \leq 0,05$), а к концу эксперимента снижалось примерно до контрольного уровня. Достоверные различия между группами отмечались во все сроки, кроме 1- и 5-х суток ($p \leq 0,05$).

Активность каталазы плазмы крови НУ крыс была статистически значимо снижена весь период наблюдения, но наибольшее ее угнетение отмечалось на 5-е сутки (до 31% от контрольного уровня) (таблица 30). К 14-м суткам наметился определенный подъем параметра до 88% от базисных значений, который, однако, вновь сменился ингибированием активности фермента. Снижение активности каталазы плазмы крови у ВУ животных было менее значительным – статистически значимые межгрупповые различия выявлялись как в контроле, так и в динамике эксперимента, за исключением 14-х суток. Один максимум, достоверно ($p \leq 0,05$) превышающий базальные цифры показателя на 27%, фиксировался на 3-и сутки. В прочие отрезки времени каталазная активность плазмы крови была ниже контрольного уровня с минимумами на 5-е (64%, $p \leq 0,05$) и 35-е (51%, $p \leq 0,05$) сутки.

Исходная активность каталазы эритроцитов также была выше у ВУ крыс (на 23,6%, $p \leq 0,05$) (таблица 31). Экстремальная гипоксия вызвала значительное статистически значимое усиление каталазной активности в этой группе, пик которого был зафиксирован на 7-е сутки (в 2,2 раза выше контроля, $p \leq 0,05$). К концу наблюдения показатель вернулся к базальным значениям. У крыс неустойчивых к гипоксии было отмечено ингибирование каталазы в той или иной степени в различные сроки эксперимента. Наименьшей защитная роль фермента была в первые сутки (72% от контрольных величин, $p \leq 0,05$). В дальнейшей ди-

намике активность каталазы была близка к контрольной. Межгрупповые различия были достоверны во все контрольные отрезки времени.

Динамика активности другого фермента АОЗ супероксиддисмутазы эритроцитов у животных ВУ и НУ к гипоксии была схожа – в обеих группах активность СОД ингибировалась, но в большей степени у животных нерезистентных (таблица 31); показатели статистически значимо различались как с контролем (у ВУ во все сроки, кроме 3-, 21-35-х суток), так и между собой.

Таблица 31 – Ферменты антиоксидантной защиты эритроцитов в восстановительном периоде после остановки системного кровообращения у крыс с различной устойчивостью к гипоксии

Показатели	СОД эритроцитов, ед/мг гемоглобина		Каталаза эритроцитов, мМ/мин·мг гемоглобина	
Периоды наблюдения	Группы животных			
	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30	ВУ М±σ, n=30	НУ, М±σ, n=30
Контроль	24,33±7,04	17,73±4,87 [#]	228,83±70,09	174,79±41,93 [#]
1 сутки	20,45±5,41*	9,46±2,27* [#]	274,22±53,37*	125,01±27,36* [#]
3 сутки	21,93±4,71	8,03±1,77* [#]	325,63±90,67*	166,75±48,80 [#]
5 сутки	18,49±4,84*	5,36±1,18* [#]	400,49±109,39*	147,76±41,52* [#]
7 сутки	14,69±3,97*	6,40±1,85* [#]	508,56±134,38*	195,05±44,93 [#]
14 сутки	19,14±5,08*	8,14±1,35* [#]	472,83±124,03*	178,44±40,46 [#]
21 сутки	23,41±5,19	13,23±3,33* [#]	326,38±97,05*	167,13±44,10 [#]
35 сутки	26,11±6,43	14,84±3,57* [#]	243,92±56,01	199,15±47,63* [#]
Примечание: *– статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – статистически значимые отличия от группы ВУ, p≤0,05				

Несмотря на то, что отдельные звенья АОЗ крови животных с разным фенотипом устойчивости по-разному реагировали на тяжелую гипоксию, показатели общей антиоксидантной активности плазмы крови в течение всего периода наблюдения были статистически значимо снижены у всех опытных животных (таблица 31). Однако в целом угнетение ОАА у толерантных особей было не таким значительным, особенно принимая во внимание ее более высокий исходный уровень (на 14% выше показателей НУ крыс). Межгрупповые различия были достоверны во все контрольные отметки, за исключением 3-х и 7-х суток.

Глава 6. ВЛИЯНИЕ ЦИТОФЛАВИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИЙ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ, ОКСИДАТИВНОГО СТАТУСА И ГОРМОНАЛЬНОГО ПРОФИЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ С РАЗНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ В ДИНАМИКЕ ПОСТРЕАНИМАЦИОННОГО ПЕРИОДА

6.1. Влияние цитофлавина на особенности нейрофизиологических механизмов восстановления функций высшей нервной деятельности

Во вторую серию экспериментов было взято 260 низкоустойчивых (из них 144 контрольные) и 206 высокоустойчивых к гипоксии крыс (из них 103 контрольные). Контрольным животным после моделирования остановки кровообращения вместо цитофлавина вводили физиологический раствор в том же объеме: 0,3 мл в хвостовую вену ежедневно в течение 10 дней.

Показатели контрольных групп животных второй серии (ВУ-контроль, НУ-контроль), которым вместо цитофлавина вводили физиологический раствор, не имели статистически значимых различий с аналогичными показателями опытных животных первой серии.

Доля успешно реанимированных крыс в опытных группах второй серии была сопоставима с результатами контрольных групп второй серии и опытных групп первой серии экспериментов: среди ВУ 90,3% – 84 крысы (в первой серии 89,6%, ВУ-контроль второй серии 90%), среди НУ 75,4% – 87 (в первой серии 74,7%, НУ-контроль второй серии 75%).

Динамика интегрального показателя общего состояния (ПОС) крыс на протяжении восстановительного периода на фоне введения цитофлавина представлена на рисунке 33.

Первые достоверные различия между показателями опытной (цитофлавин) и контрольной (физраствор) групп появились у ВУ крыс к окончанию первых 12 часов наблюдения: ПОС снизился с $56,12 \pm 9,26$ до $50,22 \pm 8,13$ баллов ($p \leq 0,05$). У НУ животных статистически значимая положительная динамика ре-

гистрировалась позднее, но была более выражена. Так самый значительный сдвиг в общем состоянии у НУ животных был отмечен к концу первых (с $57,13 \pm 2,94$ до $44,62 \pm 2,73$ баллов, $p \leq 0,05$) и третьих (с $34,42 \pm 1,12$ до $21,42 \pm 0,97$, $p \leq 0,05$) суток наблюдения.

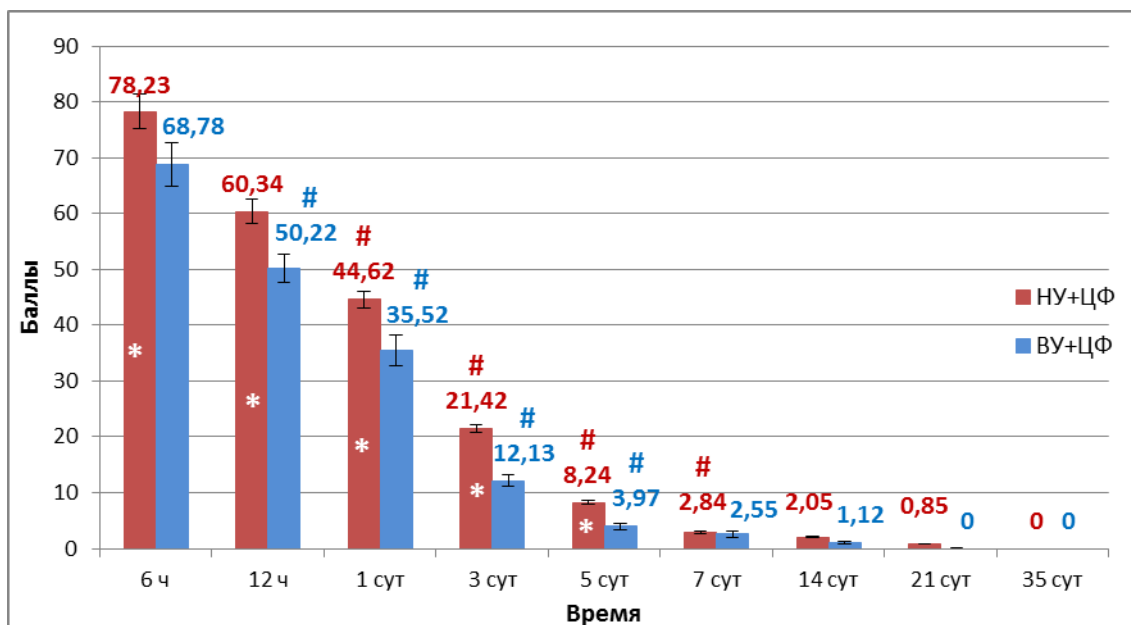


Рисунок 33 – Динамика показателя общего состояния крыс с разной устойчивостью к гипоксии в восстановительном периоде после системной ишемии-реперфузии и коррекции цитофлавином

Примечание: * – $p \leq 0,05$ – статистически значимые различия между группами ВУ+ЦФ и НУ+ЦФ, # – между группами ВУ-контроль/ВУ+ЦФ и НУ-контроль/НУ+ЦФ

Следует отметить, что неврологический дефицит на фоне введения ЦФ снижался в обеих группах более быстрыми темпами: статистическая значимость различий между показателем общего состояния групп ВУ+ЦФ и НУ+ЦФ исчезла уже на 7-е сутки, в то время как в контроле без коррекции только на 14-е сутки.

Другим очень важным критерием эффективности примененной терапии явилось снижение летальности в восстановительном периоде (рисунок 34а-б).

У НУ крыс наиболее значительным положительным результатом было снижение общей летальности с 25,3% до 19,5% при отсутствии смертельных исходов в позднем восстановительном периоде (14-21-е сутки) (рисунок 34а), что

было характерным для первой серии. У ВУ животных общая летальность почти не изменилась (снизилась менее чем на процент). При этом случай самой поздней гибели экспериментальной крысы был зафиксирован в промежутке 3-5-е сутки, т.е. сдвинулся на один контрольный срок (рисунок 34б).

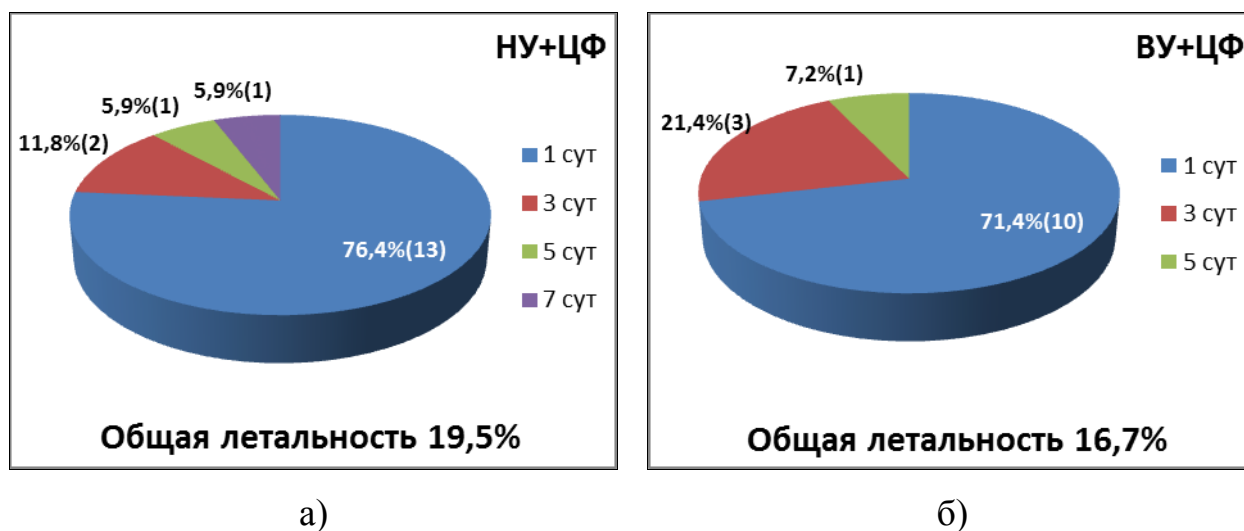


Рисунок 34 – Летальность в динамике восстановительного периода а) в группе НУ крыс, б) в группе ВУ крыс, получавших коррекцию цитофлавином, в % к общему числу погибших крыс

Таким образом, применение цитофлавина позволило сократить сроки восстановления неврологического статуса в обеих группах животных, нивелировало разницу между общим состоянием ВУ и НУ крыс, снизило общую летальность. Следует подчеркнуть, что более выраженный положительный терапевтический эффект был достигнут у низкоустойчивых особей.

Поведение крыс в тесте «открытое поле». Результаты исследования в «открытом поле» контрольных животных во второй экспериментальной серии были сопоставимы с аналогичными в первой серии, в частности, различия, соответствующие разным типам адаптационных стратегий [174], сохранились (таблица 32).

Применение нами в постреанимационном периоде комплексного антигипоксанта оказало влияние на процессы восстановления высшей нервной деятельности животных. У неустойчивых к гипоксии животных к концу первых суток после экстремального гипоксического воздействия статистически значимо

уменьшилось угнетение компонентов ориентировочно-исследовательской активности, характерное для этого периода для обеих групп: ОИА в группе НУ-контроль снижалась до 62% от базальных значений ($p \leq 0,05$), у леченых ЦФ до 71% ($p \leq 0,05$). Изменения в группе ВУ+ЦФ по сравнению с группой ВУ-контроль были недостоверны. Снижение ограничения двигательной и ориентировочно-исследовательской активности является важным позитивным фактором, в значительной степени облегчающим животным реализацию свойственной фенотипу стандартной стратегии адаптации.

Таблица 32 – Объем и структура паттернов поведения крыс с разной устойчивостью к гипоксии по тесту «открытое поле» в динамике восстановительного периода после остановки системного кровообращения и при коррекции цитофлавином, $M \pm \sigma$, усл. ед.

Показатели	Исходные данные	Восстановительный период после гипоксии, сутки						
		1	3	5	7	14	21	35
	Количество животных в группе							
	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10
Низкоустойчивые к гипоксии крысы								
Число пересеченных квадратов НУ+ЦФ	22,70± 4,45	10,70± 1,89*	38,90± 7,56*^	60,30± 11,01*^	63,30± 10,89*^	54,23± 10,57*^	29,00± 9,53*	24,10± 7,48
Число пересеченных квадратов НУ-контроль	23,30± 5,27	9,50± 2,55*	55,30± 9,36*	73,60± 12,92*	84,30± 11,01*	75,20± 10,76*	34,00± 9,63*	23,80± 7,84
Груминг НУ+ЦФ	0,90± 0,88	0,70± 0,67	1,30± 0,95	1,60± 0,52	1,40± 0,52	1,20± 0,79	1,40± 0,52	1,30± 0,67^
Груминг НУ-контроль	0,90± 0,88	0,60± 0,70	1,70± 0,82	1,50± 0,53	1,40± 0,84	1,40± 0,84	2,00± 0,82*	2,00± 0,82*
Число актов дефекации НУ+ЦФ	2,70± 1,16	1,70± 0,82	2,80± 0,79	2,80± 1,03	3,30± 0,95^	3,60± 1,17^	3,20± 1,03^	2,80± 0,63^
Число актов дефекации НУ-контроль	2,60± 1,17	1,60± 0,97	3,30± 0,67	2,40± 1,26	1,20± 0,63*	1,20± 0,63*	2,30± 0,67	2,00± 0,47
ЭТ НУ+ЦФ	34,10± 4,46	15,30± 1,83*^	19,60± 2,95*	31,70± 6,58	33,60± 7,38^	40,10± 7,25	37,70± 7,23	35,10± 2,38^
ЭТ НУ-контроль	34,60± 4,45	9,00± 1,70*	19,20± 2,86*	17,87± 3,32*	19,70± 2,87*	22,21± 3,22*	29,80± 2,97*	29,30± 2,26*

Показатели	Исход- ные данные	Восстановительный период после гипоксии, сутки						
		1	3	5	7	14	21	35
	Количество животных в группе							
	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10
ОИА НУ+ЦФ	39,10± 6,08	27,90± 2,51*^	51,30± 5,98*^	74,70± 15,10*^	80,20± 12,06*^	71,60± 7,55*^	48,30± 9,75*	41,30± 8,07
ОИА НУ-контроль	40,80± 6,09	25,00± 3,30*	65,50± 4,58*	91,80± 21,19*	98,00± 10,57*	92,60± 7,62*	53,05± 10,17*	42,30± 7,87
Высокоустойчивые к гипоксии крысы								
Число пересечен- ных квадратов ВУ+ЦФ	20,70± 3,40	13,50± 3,44*^	30,00± 7,62*^	48,70± 9,10*^	40,20± 10,79*^	26,70± 9,51*^	19,80± 6,81^	20,40± 5,76
Число пересечен- ных квадратов ВУ-контроль	21,30± 4,11	11,70± 3,33*	34,00± 7,62*^	46,70± 9,10*^	50,70± 13,48*^	42,60± 11,07*^	24,30± 7,26^	23,10± 6,54
Груминг ВУ+ЦФ	1,00± 0,67	1,10± 0,74	1,40± 0,70	1,20± 0,92	1,10± 0,32	1,00± 0,67	0,90± 0,57	1,10± 0,74
Груминг ВУ-контроль	1,10± 0,74	1,30± 0,67^	1,70± 0,82*	1,60± 1,07	0,70± 0,67	1,20± 0,42	1,60± 0,97	1,60± 0,97
Число актов де- фекации ВУ+ЦФ	0,90± 0,88^	0,70± 1,06^	0,90± 0,32*^	1,20± 0,92^	1,0± 0,67^	1,20± 0,92*^	0,90± 0,74*^	0,80± 0,63*^
Число актов де- фекации ВУ-контроль	0,90± 0,88^	0,80± 1,14	2,30± 0,48*^	1,20± 0,42^	1,30± 0,82	2,30± 0,67*^	2,50± 0,71*	2,60± 0,52*^
ЭТ ВУ+ЦФ	25,50± 4,65^	12,60± 2,99*^	17,20± 2,53*^	22,80± 3,01^	24,70± 1,89^	26,90± 3,07^	25,00± 3,56*^	25,30± 4,32^
ЭТ ВУ-контроль	24,80± 4,49^	8,50± 2,17*	10,16± 2,63*^	20,80± 3,01*	23,70± 1,89^	28,91± 3,02*^	30,17± 3,68	28,30± 4,32
ОИА ВУ+ЦФ	36,40± 3,50	26,90± 4,95*	48,30± 7,73*	67,40± 8,71*	61,70± 13,98*^	47,80± 13,37^	44,50± 14,24	38,50± 7,49
ОИА ВУ-контроль	37,00± 3,56	26,30± 5,08*	53,80± 7,44*^	62,40± 8,83*^	70,80± 13,88*^	60,00± 17,43*^	43,60± 8,51^	42,40± 8,32
*– p≤0,05 статистически значимые отличия от контрольной группы, ^ – p≤0,05 статистически значимые отличия между группами ВУ-контроль и НУ-контроль, ВУ+ЦФ и НУ+ЦФ, ^ – p≤0,05 статистически значимые отличия между группами ВУ-контроль/ВУ+ЦФ и НУ-контроль/НУ+ЦФ								

Число актов груминга и анксиогенной дефекации к концу первых суток снижалось у всех животных, принимавших ЦФ, в меньшей степени, чем в контрольных группах, однако эти различия не были достоверны.

Эти изменения согласуются со сдвигами интегрального показателя эмоциональной тревожности. ЭТ, определяемый как сумма паттернов «вертикальная стойка», «стойка с упором», «движение на месте» в контроле снижался в несколько раз независимо от устойчивости к гипоксии. После коррекции ЦФ уже к концу первых суток наблюдалась положительная динамика: у НУ крыс уровень ЭТ с 26% от исходных данных поднимался до 45% ($p \leq 0,05$), у ВУ с 34% до 49% ($p \leq 0,05$).

Таким образом, большой положительный эффект от применения цитофлавина на этом этапе был достигнут у НУ крыс.

Начиная с третьих суток отмечалось повышение двигательной активности в обеих группах животных (таблица 32). Повышенная двигательная активность, характерная для НУ крыс и являющаяся чертой резистентной стратегии адаптации, после первых суток угнетения не только восстанавливалась, но и существенно усиливалась в динамике восстановления, особенно в первой серии экспериментов (к 7-м суткам в 3,7 раза). Во второй серии усиление ГДА было не столь значительным, максимальная двигательная активность превысила контрольную в 2,8 раза ($p \leq 0,05$), также приходилась на 7-е сутки и имела статистически значимые различия с результатами контрольной группы. Нормализация показателя произошла к 35-м суткам наблюдения. О готовности к реализации резистентной стратегии адаптации свидетельствует также параллельное повышение или тенденция к повышению уровня анксиогенной дефекации [117], которое имело место не только на третьи сутки, как в первой серии, но на протяжении всего оставшегося периода наблюдения.

Для высокоустойчивых животных значительное повышение числа горизонтальных локомоций, имевшее место в первой экспериментальной серии, в отличие от низкоустойчивых, является скорее признаком дезадаптации, чем адаптации. Поэтому укорочение периода двигательной гиперактивности, длящейся в группе без коррекции до 14-х суток, до конца 7-х суток с одновременным снижением максимальных значений является благоприятным фактором и свидетельствует об ускорении процессов восстановления функции ЦНС после

коррекции ЦФ. Нормализация ГДА произошла уже к концу третьей недели наблюдения.

Параллельно с ростом горизонтальных локомоций росла и ориентировочно-исследовательская активность, оценивающая в большей степени вертикальную кинетику, поскольку ОИА представляет собой сумму паттернов «вертикальная стойка», «стойка с упором», «движение на месте». У животных с низкой резистентностью к гипоксии на фоне коррекции ЦФ наблюдался быстрый подъем показателя в течение первой недели эксперимента (до 205% от контрольного уровня, $p \leq 0,05$) и затем постепенное приведение его к исходным значениям. Это статистически значимо отличалось от результатов контрольной группы, для которой была характерна чрезмерная активация ОИА (на 7-е сутки 248% от контрольного уровня, $p \leq 0,05$) в промежутке 5-14-е сутки. Различия между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ были достоверны на всем протяжении восстановительного периода, кроме 21-х и 35-х суток.

В группе контрольных ВУ животных на протяжении первой недели эксперимента наблюдалось градуальное повышение (на 7-е сутки 193% от базальных величин, $p \leq 0,05$), а в последующем снижение ОИА до значений, превышающих исходные. Терапия цитофлавином трансформировала динамику этого компонента поведенческих реакций, несколько снизив максимальные значения показателя (со 191% до 185%) и переместив период наиболее высокой ориентировочно-исследовательской активности с 7-х суток на 5-е, однако различия между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ были незначимы. К окончанию наблюдения ОИА была сопоставима с исходными значениями показателя.

Динамика интегрального показателя эмоциональной тревожности, который изначально имел статистически значимые отличия между группами устойчивых и неустойчивых к гипоксии крыс, после коррекции ЦФ также трансформировалась. В группе нелеченых НУ крыс на всем протяжении эксперимента отмечалось устойчивое снижение ЭТ, значимо отличное от исходных данных.

У ВУ нелеченых крыс после начального снижения показателя наблюдалось статистически значимое усиление проявлений эмоциональной тревожно-

сти, которое начиналось с 14-х суток и сохранялось до окончания исследования. После терапии цитофлавином в период 1-3-и сутки значительно снизилась степень угнетения ЭТ, а в дальнейшем мы наблюдали нормализацию этого компонента с выявлением различий на 21-е сутки между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ.

Поведение крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». Анализ результатов исследования контрольных животных во второй серии экспериментов в тесте ПКЛ выявил те же статистически значимые исходные различия поведенческих паттернов, что и в первой серии, согласно которым ВУ животные оказались менее тревожными, чем НУ (таблица 33, 34).

На фоне применения ЦФ спустя 24 часа после реанимации у ВУ крыс сохранилось нарушение поведенческой реакции на новизну: время пребывания в открытых, не комфортных для животных, рукавах в группе ВУ+ЦФ составило 32,6% от общего времени пребывания в лабиринте (в группе сравнения 36%, исходный показатель – 9%). При этом несколько оживились исследовательские реакции – объем паттерна «свешивание» в группе ВУ+ЦФ увеличился на 50%, что было значимо отлично от исходного показателя и от показателя нелеченых крыс. В этот же отрезок времени в группе НУ животных, получавших цитофлавин, статистически значимые изменения коснулись только длительности нахождения в открытых рукавах: она снизилась по сравнению с нелечеными крысами на 8% и составила 47,3% (в группе сравнения 55%, исходный показатель 2%).

Время пребывания в комфортных закрытых рукавах, характеризующее эмоциональную составляющую поведения, в динамике восстановления после гипоксии постепенно увеличивалось в обеих группах, но на фоне коррекции цитофлавином это происходило быстрее. Параллельно снижалось время нахождения в открытых рукавах и в центре ПКЛ. Следует отметить, что векторы изменений этих нейроэтологических показателей в группах были направлены на сближение: у животных ВУ к гипоксии, происходило постепенное снижение тревожности, а у НУ – степени ее подавления и тенденция к нормализации.

Таблица 33 – Паттерны поведения крыс с высокой устойчивостью к гипоксии по тесту «приподнятый крестообразный лабиринт» в динамике восстановительного периода после остановки системного кровообращения и при коррекции цитофлавином, $M \pm \sigma$, усл. ед.

Показатели	Исходные данные	Восстановительный период после гипоксии, сутки						
		1	3	5	7	14	21	35
		Количество животных в группе						
	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10
Время пребывания в закрытых рукавах, с ВУ+ЦФ	268,8 $\pm$ 8,52 [#]	195,7 $\pm$ 10,50 ^{*#}	237,8 $\pm$ 13,92 ^{*#^}	247,6 $\pm$ 15,98 ^{*^}	264,5 $\pm$ 9,97 [#]	255,4 $\pm$ 14,42 ^{#^}	269,3 $\pm$ 12,19 [^]	275,3 $\pm$ 7,94 [^]
Время пребывания в закрытых рукавах, с ВУ-контроль	267,4 $\pm$ 17,99 [#]	185,6 $\pm$ 10,49 ^{*#}	276,3 $\pm$ 16,19 [#]	261,7 $\pm$ 15,74 [#]	274,5 $\pm$ 10,63 [#]	284,0 $\pm$ 10,17 ^{*#}	293,5 $\pm$ 10,99 ^{*#}	287,3 $\pm$ 10,77 ^{*#}
Время пребывания в центральной зоне, с ВУ+ЦФ	6,2 $\pm$ 1,06	6,6 $\pm$ 2,13 ^{#^}	15,1 $\pm$ 4,93 ^{*#^}	13,5 $\pm$ 2,70 ^{*^}	8,4 $\pm$ 1,93 [#]	10,4 $\pm$ 2,95 ^{*#}	9,4 $\pm$ 2,58 ^{*#^}	7,0 $\pm$ 1,95 ^{*^}
Время пребывания в центральной зоне, с ВУ-контроль	5,7 $\pm$ 1,65	9,4 $\pm$ 2,24 ^{*#}	9,2 $\pm$ 2,62 ^{*#}	17,4 $\pm$ 4,95 ^{*#}	10,2 $\pm$ 2,05 ^{*#}	8,1 $\pm$ 2,13	5,3 $\pm$ 1,53 [#]	9,4 $\pm$ 2,37 ^{*#}
Время пребывания в открытых рукавах, с ВУ+ЦФ	25,0 $\pm$ 3,77 [#]	97,7 $\pm$ 16,12 ^{*#}	47,1 $\pm$ 12,75 ^{*#^}	38,9 $\pm$ 9,93 ^{*^}	26,1 $\pm$ 6,88 ^{#^}	34,2 $\pm$ 11,56 ^{*^}	19,7 $\pm$ 5,88 ^{*#^}	9,7 $\pm$ 2,22 ^{*#^}
Время пребывания в открытых рукавах, с ВУ-контроль	26,9 $\pm$ 5,40 [#]	105,0 $\pm$ 27,16 ^{*#}	14,5 $\pm$ 4,22 ^{*#}	20,9 $\pm$ 5,93 [#]	15,3 $\pm$ 2,12 ^{*#}	7,9 $\pm$ 1,76 ^{*#}	1,3 $\pm$ 0,41 ^{*#}	3,3 $\pm$ 0,86 ^{*#}
Свешивания с открытых рукавов, усл. ед. ВУ+ЦФ	3,5 $\pm$ 0,89 [#]	5,3 $\pm$ 1,41 ^{*#^}	3,5 $\pm$ 0,97 ^{#^}	4,0 $\pm$ 0,92 ^{#^}	3,8 $\pm$ 1,02 [#]	4,3 $\pm$ 1,13 ^{#^}	4,0 $\pm$ 1,27 ^{#^}	3,3 $\pm$ 0,98 ^{#^}
Свешивания с открытых рукавов, усл. ед. ВУ-контроль	3,3 $\pm$ 1,02 [#]	2,4 $\pm$ 0,85 [#]	2,1 $\pm$ 0,64 [*]	3,2 $\pm$ 0,73 [#]	3,9 $\pm$ 0,91 [#]	3,1 $\pm$ 0,52 [#]	2,1 $\pm$ 0,49 ^{*#}	1,6 $\pm$ 0,62 ^{*#}
Груминг, усл. ед. ВУ+ЦФ	1,5 $\pm$ 0,31 [#]	2,9 $\pm$ 0,81 ^{*#}	2,3 $\pm$ 0,55 [*]	2,9 $\pm$ 0,87 [*]	1,4 $\pm$ 0,37 ^{#^}	1,7 $\pm$ 0,32 ^{#^}	1,4 $\pm$ 0,34 [#]	1,2 $\pm$ 0,32 [*]
Груминг, усл. ед. ВУ-контроль	1,7 $\pm$ 0,67 [#]	3,3 $\pm$ 1,06 ^{*#}	2,4 $\pm$ 0,97 [#]	3,3 $\pm$ 0,84 [*]	0,8 $\pm$ 0,63 ^{*#}	1,0 $\pm$ 0,82 ^{*#}	1,2 $\pm$ 0,423	1,2 $\pm$ 0,63 [#]
Число актов дефекации ВУ+ЦФ	0,8 $\pm$ 0,52 [#]	1,9 $\pm$ 0,88 ^{*#}	1,2 $\pm$ 0,92 [#]	0,7 $\pm$ 0,82 [#]	1,2 $\pm$ 0,92 ^{#^}	1,3 $\pm$ 1,06 [#]	1,0 $\pm$ 0,94 [#]	1,1 $\pm$ 0,62 ^{#^}
Число актов дефекации ВУ-контроль	0,7 $\pm$ 0,20 [#]	2,1 $\pm$ 0,54 ^{*#}	1,4 $\pm$ 0,40 ^{*#}	1,7 $\pm$ 0,77 ^{*#}	2,1 $\pm$ 0,50 ^{*#}	0,9 $\pm$ 0,57 [#]	1,3 $\pm$ 0,82 ^{*#}	2,2 $\pm$ 0,79 ^{*#}

*– $p \leq 0,05$ статистически значимые отличия от контрольной группы, # – $p \leq 0,05$ статистически значимые отличия между группами ВУ-контроль и НУ-контроль, ВУ+ЦФ и НУ+ЦФ, ^ – $p \leq 0,05$ статистически значимые отличия между группами ВУ-контроль/ВУ+ЦФ

Таблица 34 – Паттерны поведения крыс с низкой устойчивостью к гипоксии по тесту «приподнятый крестообразный лабиринт» в динамике восстановительного периода после остановки системного кровообращения и при коррекции цитофлавином, $M \pm \sigma$, усл. ед.

Показатели	Исходные данные	Восстановительный период после гипоксии, сутки						
		1	3	5	7	14	21	35
	Количество животных в группе							
	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10
Время пребывания в закрытых рукавах, с НУ+ЦФ	285,8 $\pm$ 7,30 [#]	97,5 $\pm$ 11,43 ^{*#} $\wedge$	203,6 $\pm$ 10,30 ^{*#}	255,3 $\pm$ 12,55 ^{*$\wedge$}	248,5 $\pm$ 13,48 ^{*#$\wedge$}	230,2 $\pm$ 11,65 ^{*#$\wedge$}	258,3 $\pm$ 13,11 ^{*$\wedge$}	270,7 $\pm$ 11,14 $\wedge$
Время пребывания в закрытых рукавах, с НУ-контроль	286,5 $\pm$ 7,40 [#]	77,8 $\pm$ 17,50 ^{*#}	193,7 $\pm$ 11,45 ^{*#}	202,3 $\pm$ 14,51 ^{*#}	212,8 $\pm$ 15,02 ^{*#}	250,2 $\pm$ 11,64 ^{*#}	232,1 $\pm$ 15,08 ^{*#}	245,8 $\pm$ 12,29 ^{*#}
Время пребывания в центральной зоне, с НУ+ЦФ	7,1 $\pm$ 1,36	60,5 $\pm$ 12,22 ^{*#}	10,4 $\pm$ 4,93 ^{*#$\wedge$}	11,6 $\pm$ 3,32 ^{*$\wedge$}	13,1 $\pm$ 4,47 ^{*#}	22,7 $\pm$ 5,76 ^{*#$\wedge$}	12,5 $\pm$ 3,32 ^{*#$\wedge$}	5,9 $\pm$ 1,34 $\wedge$
Время пребывания в центральной зоне, с НУ-контроль	6,5 $\pm$ 1,83	57,2 $\pm$ 18,46 ^{*#}	32,6 $\pm$ 6,76 ^{*#}	30,5 $\pm$ 7,87 ^{*#}	13,9 $\pm$ 2,62 ^{*#}	7,4 $\pm$ 1,78	29,3 $\pm$ 6,39 ^{*#}	38,2 $\pm$ 8,66 ^{*#}
Время пребывания в открытых рукавах, с НУ+ЦФ	7,3 $\pm$ 1,92 [#]	142,0 $\pm$ 38,37 ^{*#$\wedge$}	86,0 $\pm$ 21,93 ^{*#$\wedge$}	33,1 $\pm$ 10,01 ^{*$\wedge$}	38,4 $\pm$ 12,67 ^{*#$\wedge$}	47,1 $\pm$ 13,53 [*]	29,2 $\pm$ 7,96 ^{*#$\wedge$}	23,4 $\pm$ 7,05 ^{*#$\wedge$}
Время пребывания в открытых рукавах, с НУ-контроль	7,0 $\pm$ 1,69 [#]	165,0 $\pm$ 43,06 ^{*#}	72,9 $\pm$ 19,90 ^{*#}	67,2 $\pm$ 18,45 ^{*#}	73,3 $\pm$ 16,60 ^{*#}	42,4 $\pm$ 11,11 ^{*#}	38,6 $\pm$ 10,41 ^{*#}	16,0 $\pm$ 3,37 ^{*#}
Свешивания с открытых рукавов, усл. ед. НУ+ЦФ	1,3 $\pm$ 0,51 [#]	1,3 $\pm$ 0,64 [#]	1,6 $\pm$ 0,77	2,1 $\pm$ 0,48 ^{*#$\wedge$}	1,8 $\pm$ 0,38 ^{#$\wedge$}	2,0 $\pm$ 0,48 ^{*#$\wedge$}	2,2 $\pm$ 0,52 ^{*#}	1,8 $\pm$ 0,51 ^{*#$\wedge$}
Свешивания с открытых рукавов, усл. ед. НУ-контроль	1,2 $\pm$ 0,30 [#]	0,8 $\pm$ 0,26 [#]	2,2 $\pm$ 0,64 ^{*#}	7,0 $\pm$ 1,42 ^{*#}	13,6 $\pm$ 2,29 ^{*#}	9,9 $\pm$ 2,20 ^{*#}	7,6 $\pm$ 2,62 ^{*#}	2,4 $\pm$ 0,63 ^{*#}
Груминг, усл. ед. НУ+ЦФ	0,9 $\pm$ 0,57 [#]	1,2 $\pm$ 0,54 [#]	3,5 $\pm$ 0,70 [*]	2,5 $\pm$ 0,66 ^{*#$\wedge$}	2,8 $\pm$ 0,54 ^{*#}	2,3 $\pm$ 0,55 ^{*#$\wedge$}	1,9 $\pm$ 0,54 ^{*#$\wedge$}	1,5 $\pm$ 0,34 ^{*$\wedge$}
Груминг, усл. ед. НУ-контроль	0,9 $\pm$ 0,25 [#]	1,1 $\pm$ 0,99 [#]	4,1 $\pm$ 1,28 ^{*#}	3,1 $\pm$ 0,61 [*]	3,3 $\pm$ 1,03 ^{*#}	3,0 $\pm$ 0,72 ^{*#}	1,0 $\pm$ 0,82	3,0 $\pm$ 0,50 ^{*#}
Число актов дефекации НУ+ЦФ	1,4 $\pm$ 0,43 [#]	1,2 $\pm$ 0,54 [#]	2,9 $\pm$ 0,61 ^{*#}	2,0 $\pm$ 0,86 ^{*#}	2,5 $\pm$ 0,32 ^{*#}	2,2 $\pm$ 0,85 ^{*#$\wedge$}	2,2 $\pm$ 0,79 ^{*#}	1,6 $\pm$ 0,76 [#]
Число актов дефекации НУ-контроль	1,3 $\pm$ 0,67 [#]	1,0 $\pm$ 0,47 [#]	3,0 $\pm$ 0,76 ^{*#}	2,1 $\pm$ 0,42 [*]	3,5 $\pm$ 0,77 ^{*#}	1,9 $\pm$ 0,54 [#]	2,9 $\pm$ 0,88 ^{*#}	1,3 $\pm$ 0,82 [#]

* – $p \leq 0,05$ статистически значимые отличия от контрольной группы, [#] – $p \leq 0,05$ статистически значимые отличия между группами ВУ-контроль и НУ-контроль, ВУ+ЦФ и НУ+ЦФ, $\wedge$ – $p \leq 0,05$ статистически значимые отличия между группами НУ-контроль/НУ+ЦФ

Об этом же свидетельствует и динамика актов дефекации и груминга. Максимальное число актов анксиогенной дефекации в контрольных группах без коррекции второй экспериментальной серии было существенно выше у ВУ крыс (увеличение до 300%, $p \leq 0,05$, против 269% у НУ, $p \leq 0,05$), что наряду с незавершенным грумингом свидетельствует о высокой эмоциональной тревожности и расценивается рядом авторов как положительный фактор [142, 226]. Терапия цитофлавином позволила скорректировать и этот эмоциональный компонент высшей нервной деятельности крыс и способствовала уменьшению сроков восстановления после перенесенной системной гипоксии.

Как видим, полученные в тестах ОП и ПКЛ результаты не противоречат друг другу. Несмотря на то, что оба теста, основанные на авersiveм поведении грызунов в открытом пространстве, имеют свою специфику, но при использовании в паре дополняют выявленные особенности поведения.

Таким образом, поведенческие реакции животных на фоне коррекции цитофлавином были относительно сбалансированы: чрезмерная активация исследовательских паттернов, требующая значительных затрат энергии, была несколько заторможена, а угнетенные реакции, важные для поддержания жизнеспособности, оживлены. Это способствовало нивелированию различий в ответной реакции на тяжелую гипоксию между животными с разным типом устойчивости к гипоксии.

6.2. Влияние цитофлавина на гормональный профиль плазмы крови и содержание центральных и периферических кортикостероидных рецепторов

Результаты предыдущей серии наших исследований показали, что ведущим патофизиологическим механизмом, влияющим на течение восстановления после системной гипоксии с последующей реперфузией, является активация свободнорадикальных процессов и возникновение окислительной деструкции биомолекул с развитием универсальных и достаточно стереотипных метаболических и структурных сдвигов [155; 165]. Важную роль в этом играет стрессовая

трансформация нейроэндокринной регуляции, осуществляемая через кортико-стероидные рецепторы. Причем динамика формирования окислительного стресса имеет существенные различия у животных с разным фенотипом устойчивости к гипоксии, что определяет многие важные особенности развития постренимационных осложнений.

Таким образом, поддержание ресурсов антиоксидантной защиты и антигипоксическая цитопротекция являются важнейшими факторами коррекции метаболических нарушений в восстановительном периоде после остановки кровообращения.

Влияние цитофлавина на состояние гормонального профиля плазмы крови

В первой серии экспериментов нами было показано, что нейроэндокринная регуляция претерпевает стрессовую трансформацию, связанную с остановкой системного кровообращения. Причем выраженность изменений зависела от устойчивости к гипоксии.

Применение в восстановительном периоде цитофлавина вызвало, в целом, однонаправленные сдвиги динамики гормонов гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы у животных, нивелируя различия, связанные с исходным типом кислородного метаболизма.

На фоне применения ЦФ к концу первых суток содержание кортикотропина в циркулирующей крови ВУ животных превысило аналогичный показатель группы ВУ-контроль на 37% ($p \leq 0,05$) (рисунок 35а). Это сопровождалось выбросом большего количества кортикостерона (на 10%), чем в группе сравнения, однако различия по этому показателю в группе ВУ-контроль и ВУ+ЦФ не были достоверны (рисунок 35б).

В этот же период времени в группе НУ+ЦФ содержание кортикотропина в крови по сравнению с нелечеными животными не изменилось (рисунок 35а), при этом уровень кортикостерона вырос на 34% ($p \leq 0,05$) (рисунок 35б).

На третьи сутки в группе ВУ+ЦФ концентрация кортикостерона в циркулирующей крови снизилась, приблизившись к контрольным значениям (рисунок 35б), на фоне продолжающегося подъема кортикотропина (до 228% от базаль-

ного уровня против 274% в группе без коррекции, $p \leq 0,05$).

У НУ животных терапия ЦФ так же, как и в оппозитной группе, сопровождалась снижением кортикостерона в циркулирующей крови, что было диаметрально отлично от динамики показателя в группе НУ-контроль (рисунок 35б). Уровень кортикотропина при этом был в 1,8 раза выше контрольного ($p \leq 0,05$). То есть применение ЦФ способствовало восстановлению функциональных взаимосвязей внутри ГГАС, нарушенных вследствие перенесенной тяжелой гипоксии и реперфузии.

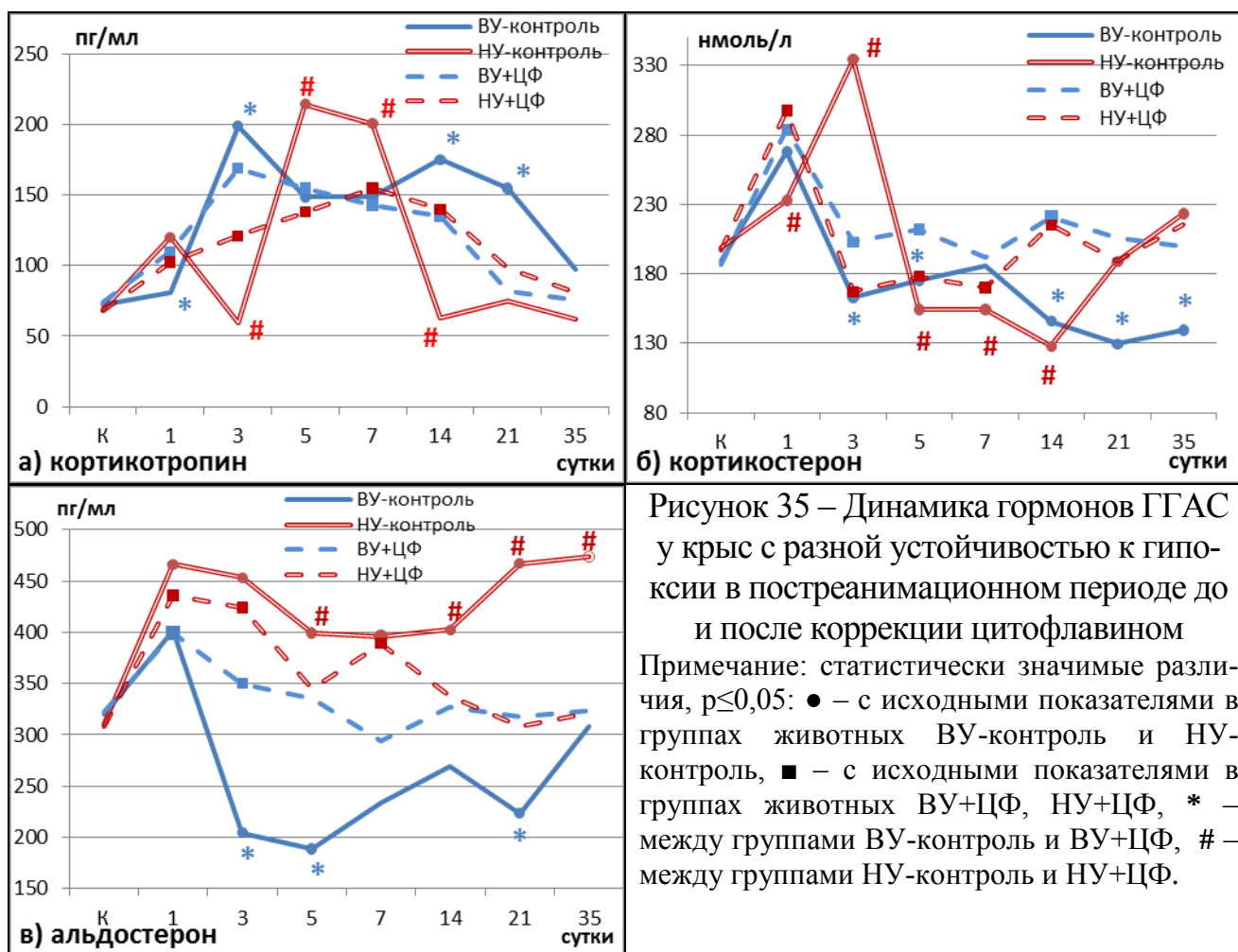


Рисунок 35 – Динамика гормонов ГГАС у крыс с разной устойчивостью к гипоксии в постреанимационном периоде до и после коррекции цитофлавином
Примечание: статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах животных ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах животных ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ.

В последующие дни в обеих группах на фоне одинаково повышенной стимуляции надпочечников кортикотропином отмечалась волнообразная динамика кортикостерона. У ВУ+ЦФ крыс уровень этого гормона по сравнению с группой сравнения повысился (отличия были значимы в 3-и, 14-35-е сутки) и стал близок к исходным значениям, статистически отличаясь от них в 5-е и 14-е

сутки (114% и 119% от базального уровня соответственно, $p < 0,05$). У НУ крыс в условиях коррекции ЦФ реакция надпочечников на кортикотропин стала более адекватной: резкое снижение содержания кортикостерона в плазме крови, определяемое на 5-21-е сутки в группе НУ-контроль, сменилось повышением и тенденцией к повышению. К 35-м суткам уровень КС был близок к исходному (рисунок 35б).

Таким образом, пики максимального содержания кортикостерона в обеих опытных группах второй экспериментальной серии приходились на первые сутки (рисунок 35б), что соответствовало общепринятым представлениям о стрессовой активации ГГАС. Различия между группами ВУ+ЦФ и НУ+ЦФ существенно сглаживались, в основном, за счет нормализации показателей НУ животных.

Аналогичная ситуация складывалась с изменением содержания альдостерона в динамике восстановительного периода. Применение ЦФ в качестве энергокорректора и метаболотропа способствовало нивелированию различий между животными разных фенотипов по этому показателю. У ВУ особей это проявилось статистически значимым повышением уровня альдостерона по сравнению с нелечеными животными, наиболее демонстративно проявившимся в период 3-7-е сутки (рисунок 35в). У НУ крыс, напротив, мы наблюдали снижение содержания альдостерона (статистически значимое в большинстве контрольных отрезков времени) и приближение его к показателям группы ВУ+ЦФ. Указанные изменения играют безусловно положительную роль в восстановлении ОЦК и нормализации кровообращения в обеих группах животных.

Влияние цитофлавина на содержание центральных кортикостероидных рецепторов в гиппокампе

У животных ВУ к гипоксии применение ЦФ способствовало статистически значимому росту активности ГР (относительно группы ВУ-контроль) в 1-, 5- и 7-е сутки экспериментов ($p \leq 0,05$) и снижению плотности рецепторов в последующие недели (значимое на 14-е и 21-е сутки). При этом в группе леченых ВУ крыс содержание ГР стало сопоставимо с базальными значениями, досто-

верно отличаясь от них только на 5-е сутки (130%, $p \leq 0,05$), на которые с конца второй недели сместился пик содержания рецептора (рисунок 36а).

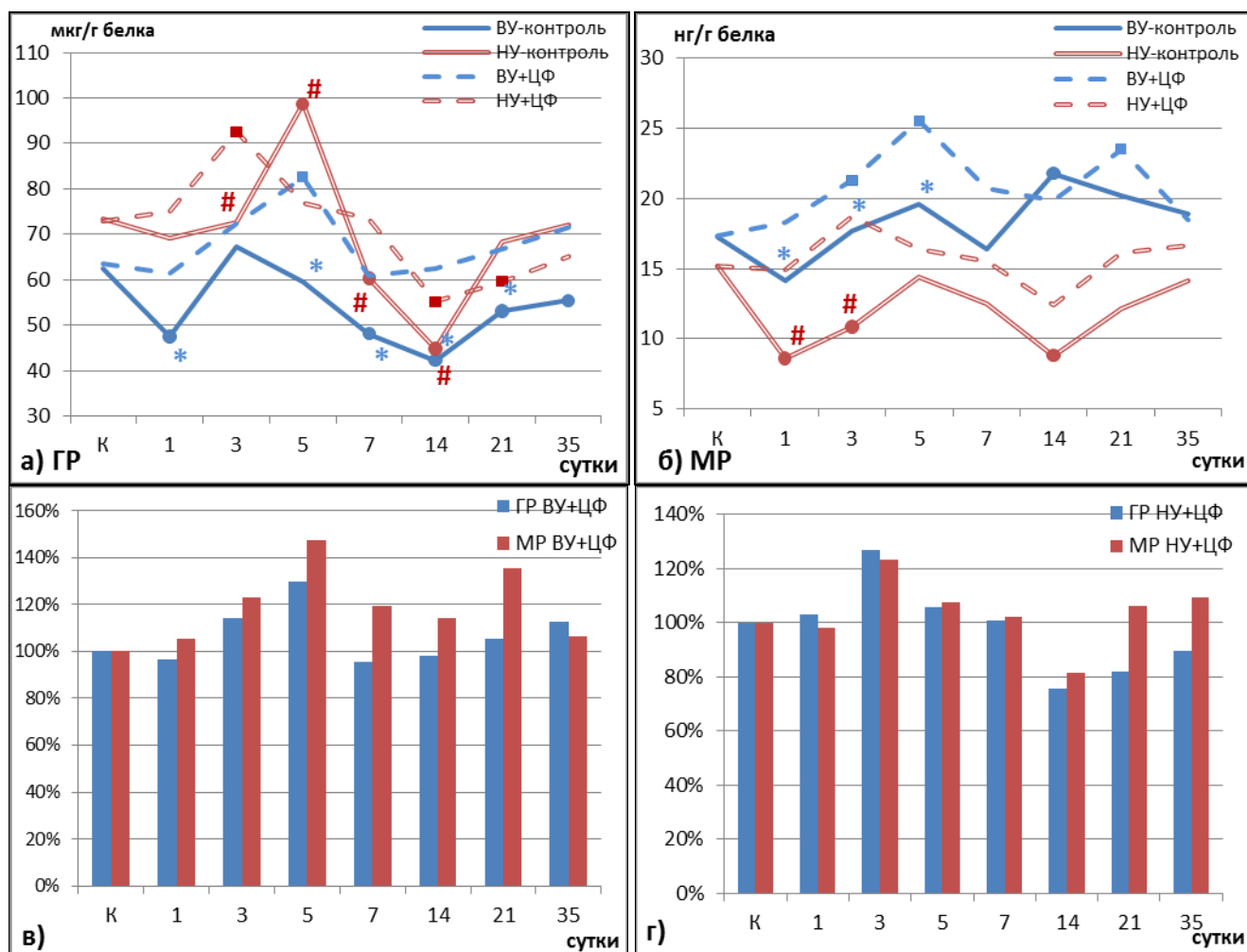


Рисунок 36 – Динамика содержания кортикостероидных рецепторов в гиппокампе в постреанимационном периоде у крыс с различной устойчивостью к гипоксии до и после коррекции цитофлавином

Примечание: а) GR – глюкокортикоидные рецепторы; б) МР – минералокортикоидные рецепторы; в) соотношение GR/MR в гиппокампе высокоустойчивых к гипоксии крыс после коррекции цитофлавином; г) соотношение GR/MR в гиппокампе низкоустойчивых к гипоксии крыс после коррекции цитофлавином. Статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах животных ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах животных ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ.

У НУ крыс на фоне применения ЦФ снизилась максимальная концентрация GR, при этом ее пик так же, как и в группе ВУ+ЦФ, сместился на более ранние третьи сутки. Снизилась также степень редукции GR в интервале 7-14-е сутки (рисунок 36а).

Динамика содержания МР в обеих группах крыс, получавших в постгипоксическом периоде ЦФ, имела общую направленность на их повышение. Различия между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ имели статистическую значимость в период 1-5-е сутки, между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ – в 1-3-и (рисунок 36 б).

Таким образом, на фоне коррекции ЦФ у НУ крыс наблюдалась нормализация соотношения МР/ГР на фоне уменьшения редукции МР. Для ВУ животных было характерно отчетливое превалирование уровня МР над ГР во все контрольные отрезки времени при восстановлении концентрации ГР (рисунок 36вг). Эти изменения являются важными звеньями саногенетических и адаптивных механизмов, влияющих на восстановление регуляторных функций ГГАС и способствующих нормализации эмоциональной компоненты поведенческих реакций [168].

Влияние цитофлавина на содержание кортикостероидных рецепторов миокарда

Применение цитофлавина в раннем постреанимационном периоде и далее на протяжении 10 суток для коррекции нарушений, вызванных тяжелой гипоксией, отразилось и на уровне функционирования кортикостероидных рецепторов миокарда. Общей чертой изменений в этой серии экспериментов было повышение, в разной степени, содержания ГР в обеих группах животных в течение первой недели постреанимационного периода.

В группе ВУ+ЦФ наблюдался статистически значимый рост уровня ГР в 1-е сутки, на 30% превысивший этот же показатель в группе сравнения. В дальнейшем мы фиксировали постепенное снижение содержания ГР, которое к 14-м суткам стало сопоставимо с контрольными величинами (рисунок 37а). Максимальная концентрация ГР сместилась с 14-х суток в группу ВУ-контроль (167% от исходного уровня, $p \leq 0,05$) на 1-е (155%, $p \leq 0,05$). Различия между результатами леченых и нелеченых крыс были достоверны 1-3-и и 14-21-е сутки.

Уровень ГР в миокарде животных группы НУ+ЦФ был значимо ниже, чем в группах ВУ-контроль (в 3-5-е, 14-35-е сутки, $p \leq 0,05$) и ВУ+ЦФ (3-7-е, 21-35-е

сутки, $p \leq 0,05$), несмотря на существенный рост содержания под влиянием цитофлавина (рисунок 37а). Различия между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ были достоверны в 1-е, 3-и и 21-е сутки.

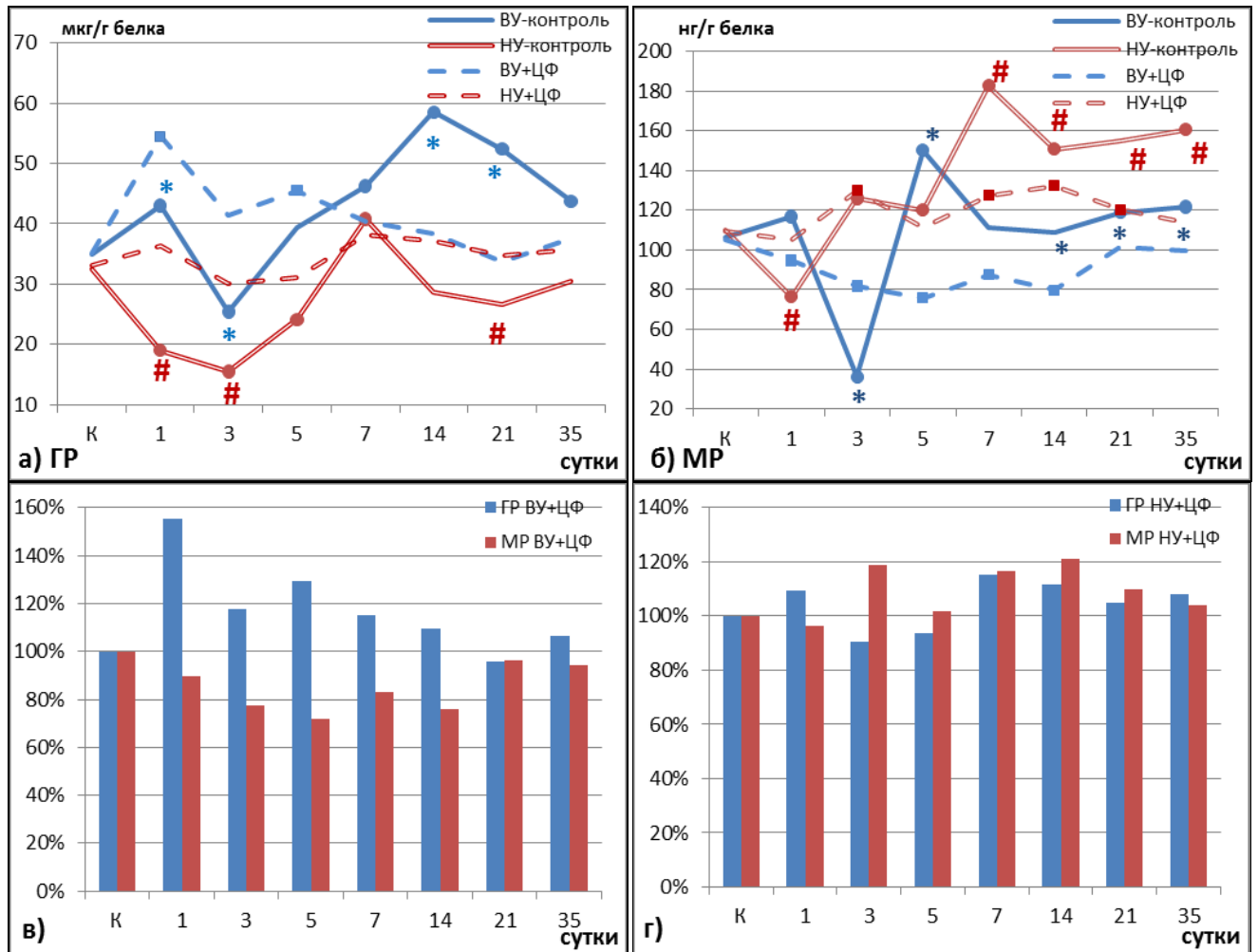


Рисунок 37 – Динамика содержания кортикостероидных рецепторов в миокарде в постреанимационном периоде у крыс с различной устойчивостью к гипоксии до и после коррекции цитофлавином

Примечание: а) ГР – глюкокортикоидные рецепторы миокарда; б) МР – минералокортикоидные рецепторы миокарда; в) соотношение ГР/МР в миокарде высокоустойчивых к гипоксии крыс после коррекции цитофлавином; г) соотношение ГР/МР в миокарде низкоустойчивых к гипоксии крыс после коррекции цитофлавином. Статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах животных ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах животных ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ.

Для динамики уровня МР в миокарде крыс обеих групп без лечения была свойственна выраженная нелинейность с резкими спадами и подъемами. Коррекция ЦФ способствовала стабилизации динамики в обеих группах, сохранив, в целом, различия. Содержание МР в миокарде крыс группы ВУ+ЦФ на протя-

жении первых двух недель эксперимента было значимо ниже исходных величин, а в последующие недели сопоставимо с ними (рисунок 37б). Концентрация МР миокарда крыс группы НУ+ЦФ в первые сутки не имела различий с базальными данными, а к третьим суткам была выше них на 20% ($p \leq 0,05$), далее удерживалась примерно на этом уровне до 14-х суток и к концу наблюдения приближалась к исходным значениям. Такая динамика была существенно отлична от показателей группы НУ-контроль, что подтверждалось статистически (рисунок 37б). Содержание МР в группе НУ+ЦФ крыс было выше, чем в группе ВУ во все контрольные отрезки времени ($p \leq 0,05$) (рисунок 37б-г).

Применение ЦФ изменило баланс ГР/МР у животных с разной устойчивостью к гипоксии, что играет весьма важную роль в регуляции метаболических процессов. Если в контрольной группе второй серии у ВУ животных преобладание, в целом, содержания ГР над МР происходило на фоне некоторой редукции рецепторов, то после коррекции цитофлавином депрессии ГР вообще не наблюдалось. У крыс в группе НУ-контроль в условиях аналогичной общей депрессии рецепторов регистрировалось тотальное превалирование содержания МР. Под влиянием цитофлавина практически нормализовался уровень ГР, что является чрезвычайно важным саногенетическим фактором. А в совокупности со снижением уровня МР это способствовало восстановлению адекватного соотношения рецепторов.

Влияние цитофлавина на содержание кортикостероидных рецепторов легких

В первые сутки восстановительного периода использование цитофлавина не привело к значимым изменениям экспрессии глюкокортикоидных рецепторов в легких по сравнению с контрольными группами. При этом показатели ВУ+ЦФ превышали исходные на 25% ($p \leq 0,05$), а НУ+ЦФ были ниже них (83%, $p \leq 0,05$) (рисунок 38а).

Анализ последующей динамики содержания ГР в группе ВУ+ЦФ выявил его общее повышение и сближение с базальными значениями, а также достоверность различий с группой ВУ-контроль в 3-и, 21-е и 35-е сутки (рисунок 38а).

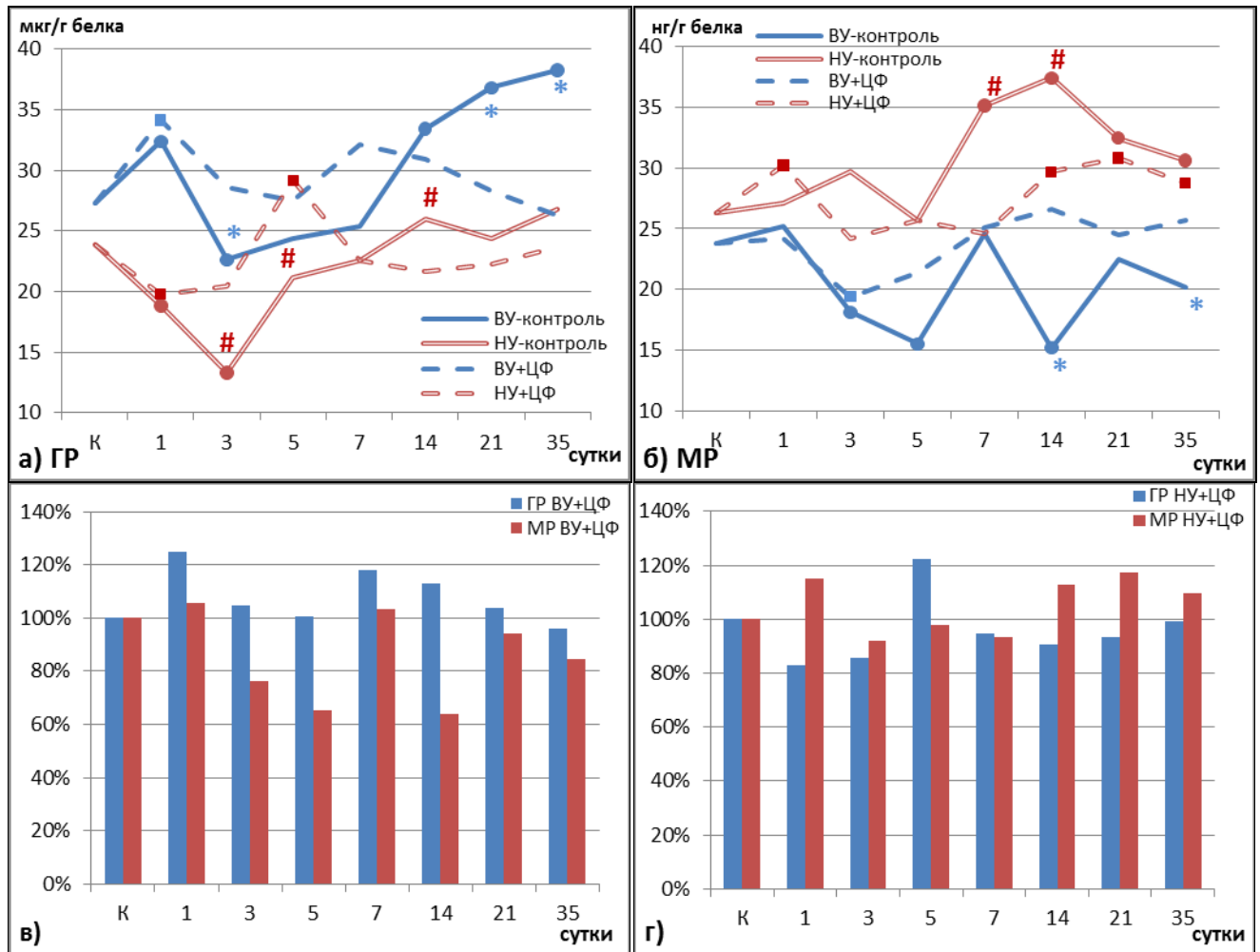


Рисунок 38 – Динамика содержания кортикостероидных рецепторов легких в восстановительном периоде у крыс с различной устойчивостью к гипоксии до и после коррекции цитофлавином

Примечание: а) ГР – глюкокортикоидные рецепторы легких; б) МР – минералокортикоидные рецепторы легких; в) соотношение ГР/МР в легких высокоустойчивых к гипоксии крыс после коррекции цитофлавином; г) соотношение ГР/МР в легких низкоустойчивых к гипоксии крыс после коррекции цитофлавином. Статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах животных ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах животных ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ.

У животных НУ к гипоксии в интервале 3-5-е сутки уровень ГР был значительно выше, чем в группе крыс без коррекции, а в период 14-35-е сутки ниже, что было сопоставимо с исходными данными (рисунок 38а). Таким образом, применение ЦФ привело к повышению содержания ГР независимо от фенотипа устойчивости к гипоксии и приближению к исходным показателям.

Динамика концентрации МР у крыс в группе НУ-контроль в первую неде-

лю постреанимационного периода имела характер тенденции к повышению, которая затем переходила в устойчивое повышение со статистически значимыми различиями с контролем. После коррекции ЦФ наблюдался общий спад реактивности МР, статистически значимый в период 7-14-е сутки. Таким образом, ни до, ни после коррекции цитофлавином уровень МР в легких не был значимо ниже базальных показателей.

Напротив, в группе ВУ-контроль активность МР в легких в течение почти всего восстановительного периода была ниже базальных показателей, причем в сроки 3-и, 5-е, 14-е сутки значимо (рисунок 38б). Терапия ЦФ привела к постепенному повышению и нормализации уровня МР. Различия между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ были значимы на 14-е и 35-е сутки.

Таким образом, суммарный эффект от применения ЦФ в качестве энергокорректора и антигипоксанта зависит от изменения соотношения в ткани родственных рецепторов МР и ГР. Наиболее важным результатом в группе ВУ+ЦФ стало повышение активности, ранее подавленной, ГР, роль которых в восстановительных процессах очень велика, на фоне нормализации уровня МР (рисунок 38в). В группе НУ+ЦФ положительный эффект ЦФ заключался в уменьшении превалирования МР, играющих заметную роль в процессах ремоделирования и развития сосудистой патологии легких, как за счет собственно снижения содержания МР, так и за счет повышения ГР.

Влияние цитофлавина на содержание кортикостероидных рецепторов в почках

Исходные уровни глюкокортикоидных рецепторов у животных с разной устойчивостью к гипоксии не имели статистически значимых различий. У животных ВУ к гипоксии применение ЦФ привело к смещению пика содержания ГР с последних 35-х суток (134% в группе ВУ-контроль, $p \leq 0,05$) на первые (123% в группе ВУ+ЦФ, $p \leq 0,05$) и удержанию высокого уровня рецепторов в течение двух недель постреанимационного периода (рисунок 39а). Важно, что концентрация ГР не опускалась ниже контрольных значений. Различия между

группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ были статистически значимы в промежутке 1-3-и и 35-е сутки.

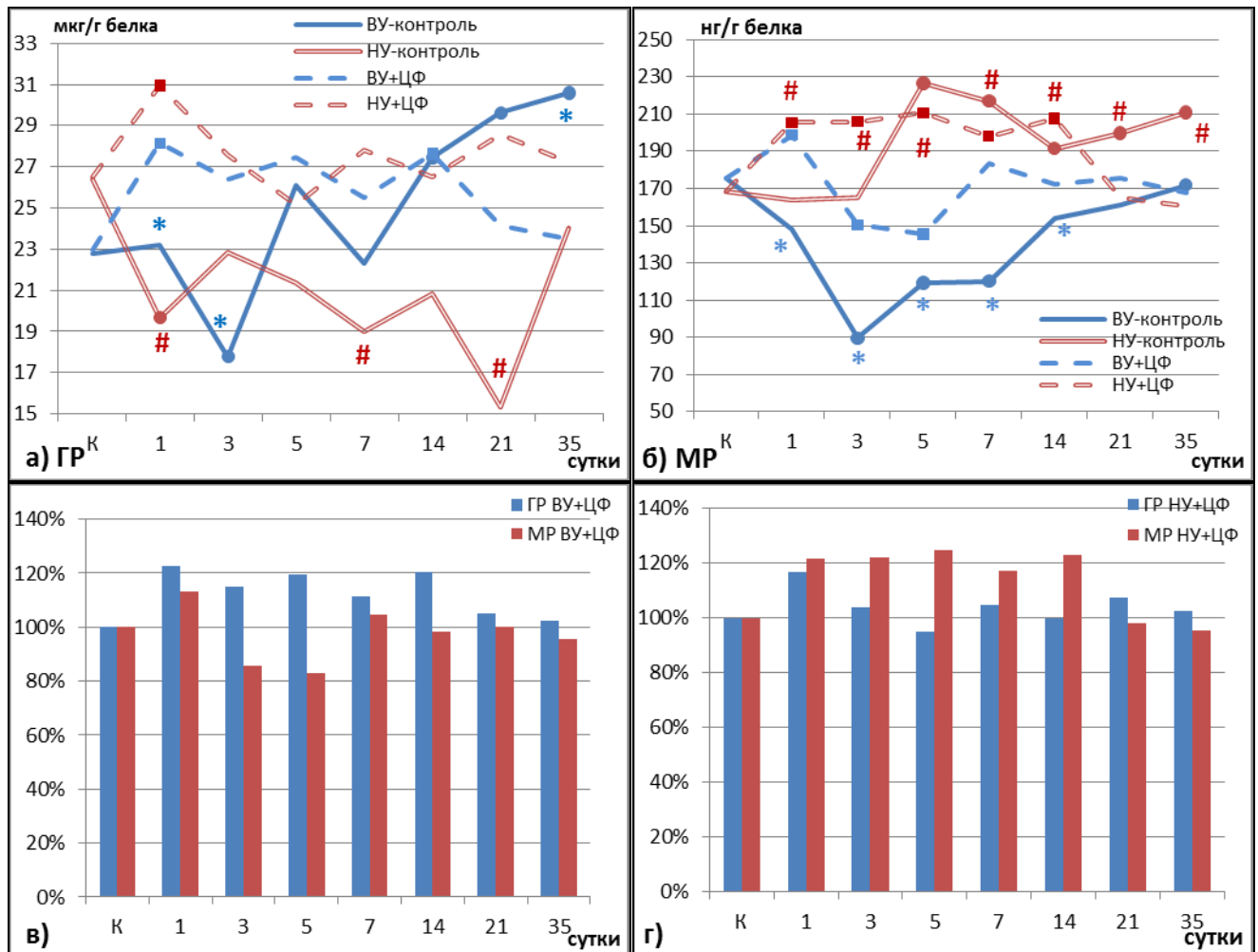


Рисунок 39 – Динамика содержания кортикостероидных рецепторов в почках в восстановительном периоде у крыс с различной устойчивостью к гипоксии до и после коррекции цитофлавином

Примечание: а) ГР – глюкокортикоидные рецепторы почек; б) МР – минералокортикоидные рецепторы почек; в) соотношение ГР/МР в почках высокоустойчивых к гипоксии крыс после коррекции цитофлавином; г) соотношение ГР/МР в почках низкоустойчивых к гипоксии крыс после коррекции цитофлавином. Статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах животных ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах животных ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ.

У крыс НУ к гипоксии после системной гипоксии иммунореактивность ГР пострадала больше, чем в группе ВУ. Применение энергокорректора трансформировало реакцию ГР: концентрация в первые сутки выросла почти до уровня группы ВУ+ЦФ (117%, $p \leq 0,05$). Далее значения показателя были близки к ис-

ходным, не имея с ними статистически значимых различий.

Уровень МР у НУ крыс был выше, чем у ВУ как в контрольной, так и в опытной группах второй серии. Наибольшие изменения после коррекции ЦФ произошли в 1-е сутки (подъем концентрации на 25% по сравнению с нелечеными крысами) и в 21-35-е (снижение содержания на 22-30%). Все различия между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ были статистически значимы (рисунок 396). После повышения содержания МР (113%, $p \leq 0,05$) в группе ВУ+ЦФ к концу первых суток эксперимента последовал спад, который продержался до 7-х суток (83-86% от уровня контроля, $p \leq 0,05$). В последующие дни показатель был сопоставим с базальными значениями, а различия между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ были достоверны во все контрольные отрезки, кроме 21-35-х суток.

Что касается соотношения между уровнями активности рецепторов МР и ГР, то можно отметить, что ни в одной группе не наблюдалось полного его восстановления. У крыс группы ВУ+ЦФ отмечалось отчетливое преобладание содержания ГР на фоне относительного снижения МР, особенно в интервале 3-5-е сутки. У НУ животных не фиксировалось редукции ни одного вида рецепторов, при этом в первые две недели отчетливо доминировали минералокортикоидные рецепторы.

Влияние цитофлавина на содержание кортикостероидных рецепторов в печени

Важным результатом применения цитофлавина после моделирования критического состояния стало повышение в обеих группах животных содержания в печени ГР, которым отводится существенная роль в механизмах восстановления. Причем динамика уровня ГР у НУ и ВУ крыс обнаруживает значительное сходство во второй серии экспериментов, различается лишь выраженность изменений.

Так, к концу первых суток после воздействия экстремальной гипоксии в обеих контрольных группах наблюдался значительный рост содержания ГР: у ВУ до 193%, у НУ до 115% от контрольного уровня ($p \leq 0,05$), после коррекции ЦФ эти цифры увеличились, соответственно, до 216% и 155% ($p \leq 0,05$) (рисунок

40а). В дальнейшем наблюдалась волнообразная динамика показателя в обеих группах. В группе ВУ+ЦФ наблюдалось еще два подъема, зарегистрированные на 5-е и 14-е сутки (154% и 136% от уровня контроля, $p \leq 0,05$) и два спада: на 3-е и 7-е (140%, $p \leq 0,05$) и 7-е (105%).

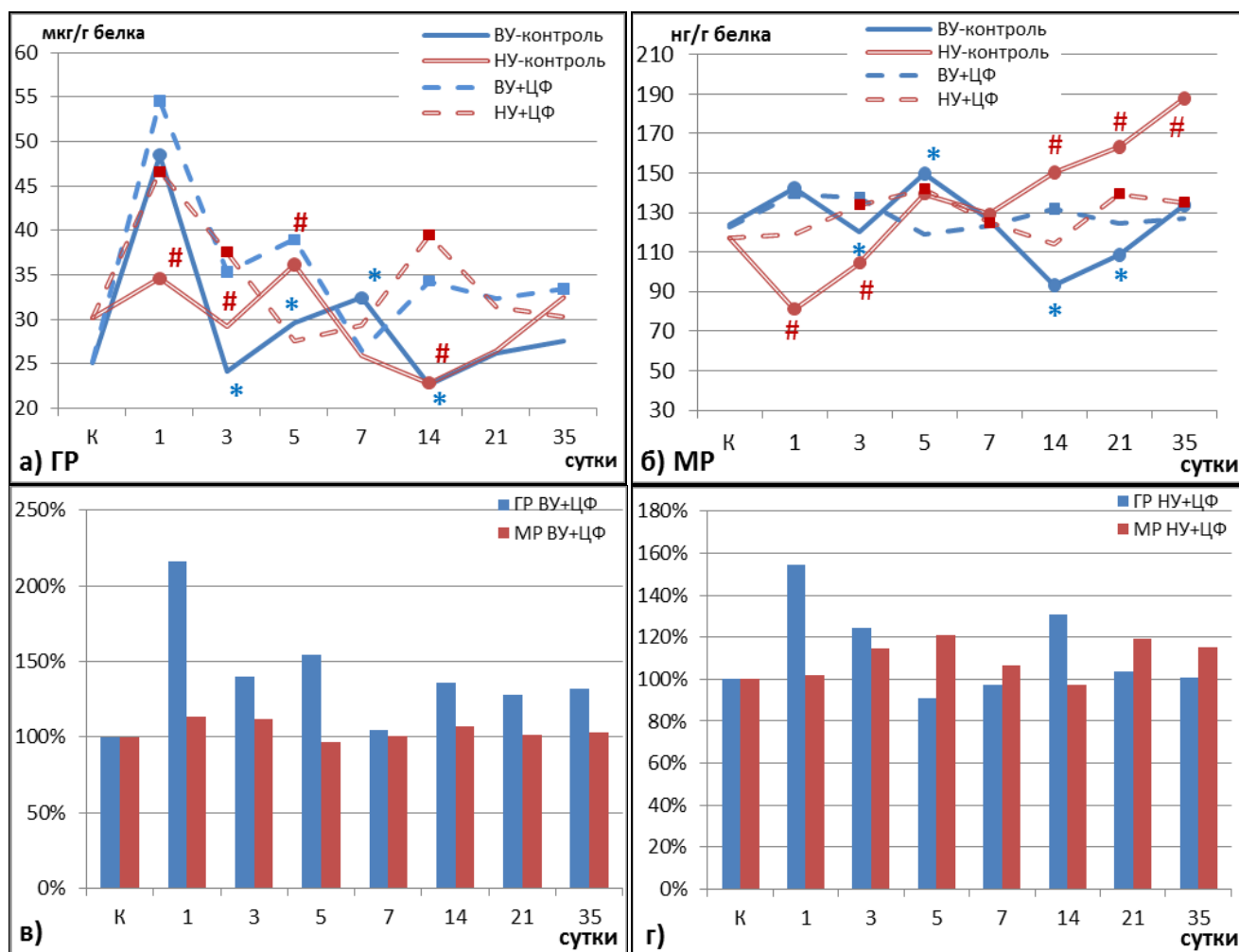


Рисунок 40 – Динамика содержания кортикостероидных рецепторов в печени в восстановительном периоде у крыс с различной устойчивостью к гипоксии до и после коррекции цитофлавином

Примечание: а) ГР – глюкокортикоидные рецепторы печени; б) МР – минералокортикоидные рецепторы печени; в) соотношение ГР/МР в печени высокоустойчивых к гипоксии крыс после коррекции цитофлавином; г) соотношение ГР/МР в печени низкоустойчивых к гипоксии крыс после коррекции цитофлавином. Статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах животных ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах животных ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ.

В группе НУ+ЦФ за подъемом в первые сутки следовало постепенное снижение уровня, который к 5-м суткам составил 91% от исходных значений.

Далее следовал рост показателя, который достиг второго пика к 14-м суткам (131% от исходного уровня, $p \leq 0,05$). Таким образом, концентрация ГР в печени в обеих группах леченых животных была выше базальных значений весь период наблюдений. Различия между одноименными контрольными и опытными группами второй экспериментальной серии были значимы почти во все контрольные отрезки времени (рисунок 40а).

МР под влиянием ЦФ также изменяли свою динамику. У животных группы НУ-контроль наблюдались периоды глубокого угнетения активности МР (1-е сутки до 69%, 3-и до 89% от исходного уровня, $p \leq 0,05$) и значительного роста (35-е сутки до 160%, $p \leq 0,05$). С применением ЦФ в восстановительном периоде редукция МР исчезла (1-е сутки 102% от исходных величин). Периоды максимальной активности рецепторов сместились на 5-е (121%, $p \leq 0,05$) и 21-е сутки (119%, $p \leq 0,05$). Различия между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ были значимы в 1-3-и, 14-35-е сутки.

У крыс с высокой резистентностью к гипоксии изменения в реактивности МР были направлены на стабилизацию их динамики. Итогом стало сближение показателей леченых и нелеченых животных в период 5-35-е сутки с исчезновением между ними статистически значимых различий.

Нарушения баланса ГР/МР, неизбежно возникающие в патологических ситуациях и наиболее выраженными оказавшиеся в первой опытной серии у животных с низкой устойчивостью к гипоксии, после коррекции цитофлавином минимизировались. В группе НУ+ЦФ повысились уровни обоих разновидностей кортикостероидных рецепторов, особенно значительные изменения произошли в 1-е и 14-е сутки. В группе ВУ+ЦФ преобладало содержание на г белка ГР при нормальном содержании МР.

6.3. Влияние цитофлавина на состояние свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты

Влияние цитофлавина на состояние свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в ткани мозга крыс

Цитофлавин, обладая комплексом характеристик, благотворно влияющих на клеточный метаболизм и ход энергообразования, вызвал закономерную перестройку антиоксидантной защиты мозга и модификацию процессов СРО.

Активность СОД, осуществляющей первую линию защиты клеток от действия свободных радикалов, росла в обеих группах крыс, получавших ЦФ (рисунок 41а).

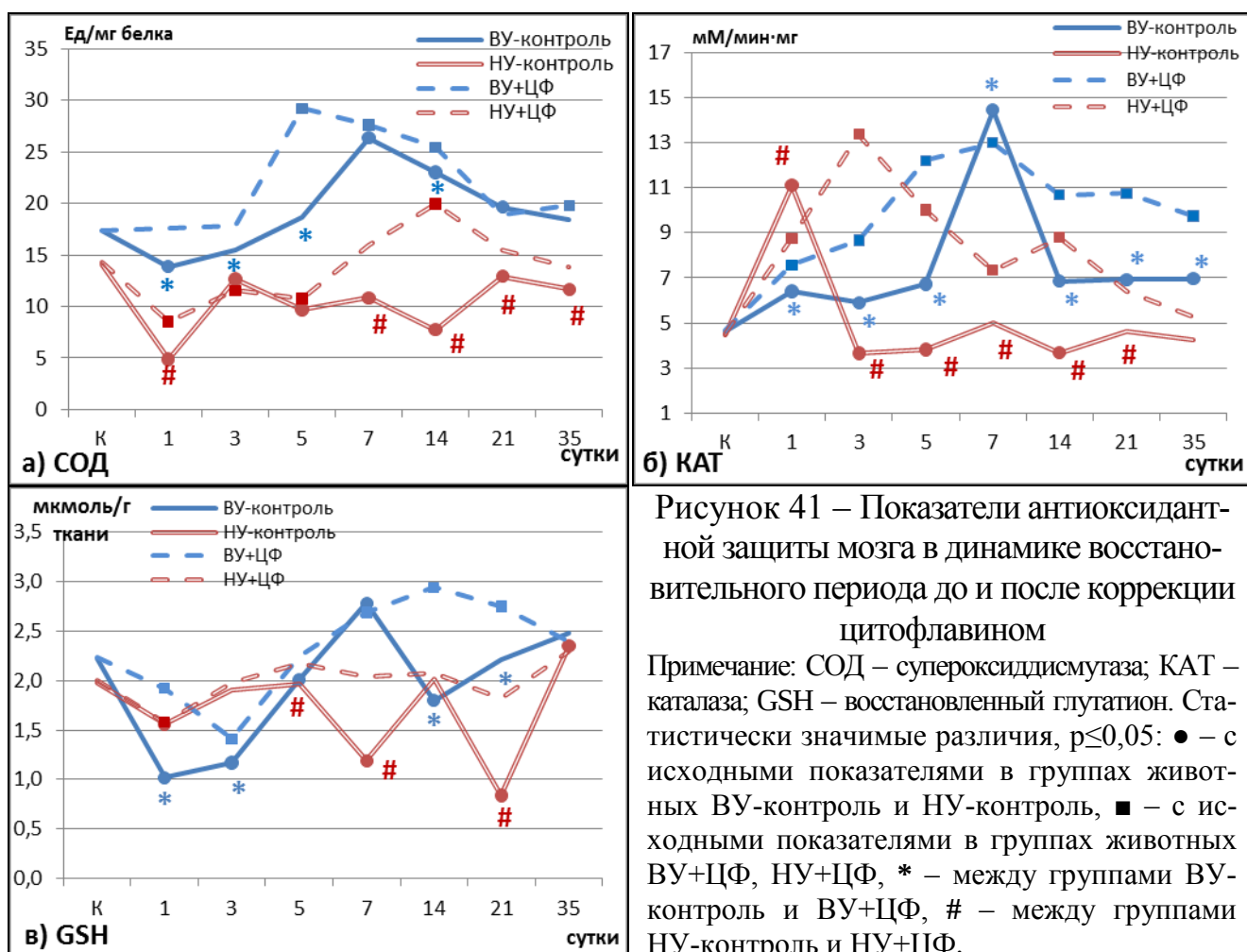


Рисунок 41 – Показатели антиоксидантной защиты мозга в динамике восстановительного периода до и после коррекции цитофлавином

Примечание: СОД – супероксиддисмутаза; КАТ – каталаза; GSH – восстановленный глутатион. Статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах животных ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах животных ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ.

У ВУ животных уровень СОД к пятым суткам повысился в 1,7 раза ($p \leq 0,05$) и удерживался примерно на этих значениях до конца второй недели

наблюдения, сохраняя статистическую значимость отличий от исходных значений. Таким образом, пик активности СОД сместился с 7-х суток на пятые. Весь указанный отрезок времени (1-14-е сутки) показатели СОД мозга группы ВУ крыс, получавших ЦФ, были достоверно выше аналогичных показателей нелеченых крыс.

У НУ крыс к концу первых суток после остановки кровообращения и первого введения ЦФ дефицит СОД снизился на 25% по сравнению с показателями нелеченых животных ($p \leq 0,05$). К концу второй недели наблюдения уровень СОД поднялся до максимальных значений (140%, $p \leq 0,05$), а затем постепенно вернулся к исходным. Результаты групп НУ-контроль и НУ+ЦФ были статистически значимо отличны в 1-е и 7-35-е сутки эксперимента.

Параллельно с ростом СОД росла и каталазная активность ткани мозга (рисунок 41б). Несмотря на то, что в ткани мозга содержится небольшое количество каталазы [45], поддержание ее активности наряду с ростом СОД является условием эффективного функционирования ферментных систем антиоксидантной защиты.

Повышение активности каталазы после коррекции ЦФ, статистически значимое во все контрольные сроки, было зарегистрировано в обеих группах с той лишь разницей, что гиперактивность фермента в группе ВУ+ЦФ сохранялась весь опытный период, а в группе НУ+ЦФ сменялась нормализацией показателя (рисунок 41б).

Чрезвычайно важным моментом состоятельности АОЗ является поддержание оптимальной концентрации восстановленного глутатиона, позволяющей восстанавливать любую дисульфидную связь, образовавшуюся между радикалами белков в цитозоле [112]. Характер повреждения этого звена АОЗ в контрольных группах второй серии экспериментов зависел от типа устойчивости к гипоксии (рисунок 41в). У ВУ животных концентрация GSH была жестко лимитирована в ранние сроки восстановления, а к концу наблюдения восстанавливалась и даже повышалась. У НУ крыс в начале постгипоксического периода от-

мечался меньший дефицит содержания GSH, однако в дальнейшем пул GSH был нестабилен, быстро истощался, но и быстро восстанавливался.

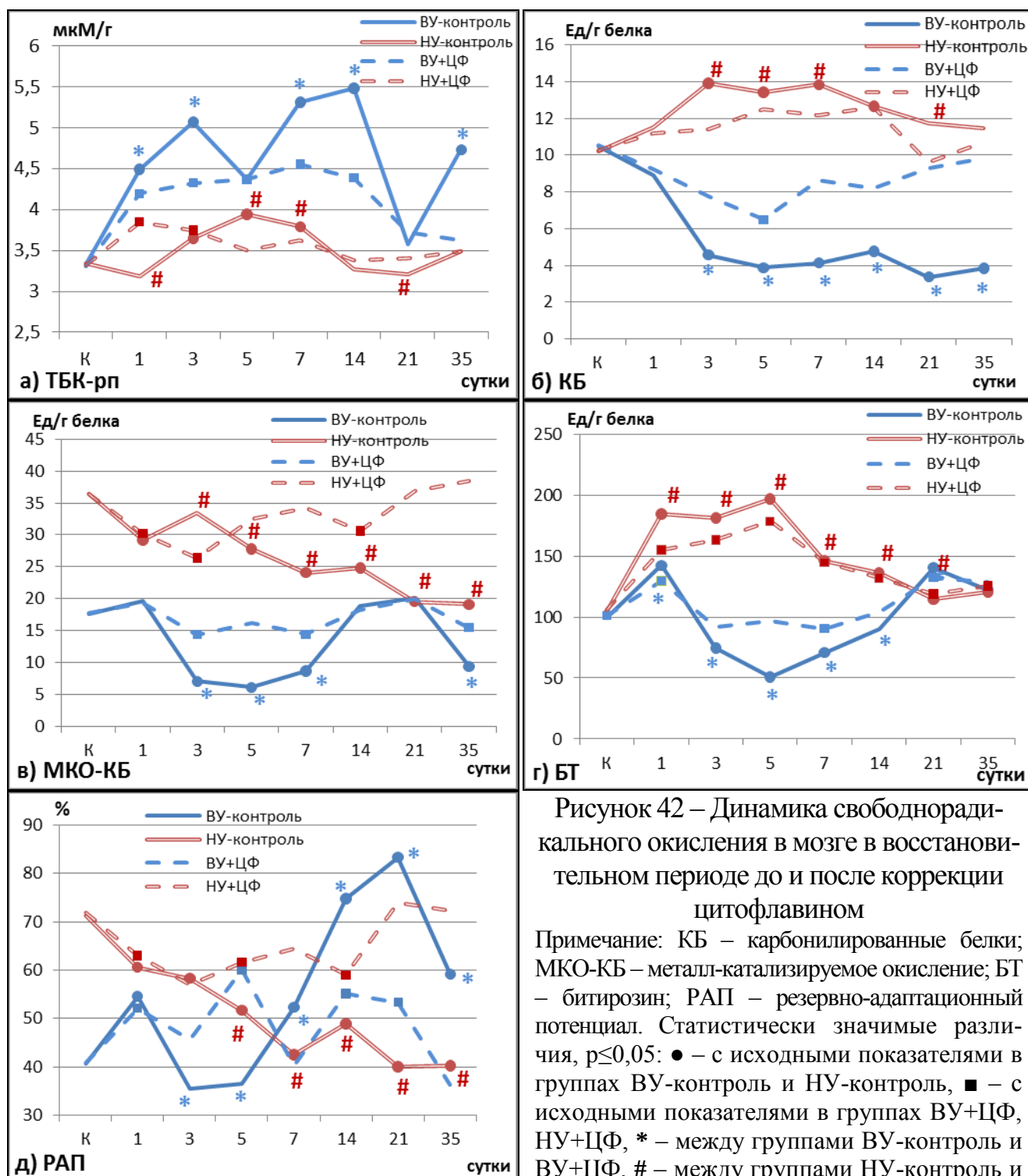


Рисунок 42 – Динамика свободнорадикального окисления в мозге в восстановительном периоде до и после коррекции цитофлавином

Примечание: КБ – карбонилированные белки; МКО-КБ – металл-катализируемое окисление; БТ – битирозин; РАП – резервно-адаптационный потенциал. Статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ.

ЦФ корректировал эти особенности метаболизма. У животных группы ВУ+ЦФ после постепенного снижения уровня GSH к третьим суткам до минимальных значений (63% от исходных данных, $p \leq 0,05$), наблюдался устойчивый

рост показателя. В промежутке 5-35-е сутки концентрация восстановленного глутатиона была выше исходных значений. Различия между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ были значимы в 1-, 3-, 14- и 21-е сутки.

У животных группы НУ+ЦФ наблюдалось восстановление пула GSH к концу 3-х суток и удержание его на этом уровне до окончания исследования (рисунок 41в).

На фоне коррекции АОЗ произошли изменения процессов СРО в мозге (рисунок 42). Активность липопероксидации в группе ВУ+ЦФ отчетливо снижалась (рисунок 42а) параллельно с повышением базального уровня маркеров ОМБ (карбонилированных белков и битирозина) и приближением их к исходным значениям (рисунок 42бг). Такой же вектор изменений был характерен и для металл-катализируемого окисления белков (рисунок 42в) и РАП (рисунок 42д).

У животных НУ к гипоксии после коррекции ЦФ произошло выравнивание кривой динамики липопероксидации и приближение показателя к исходным значениям. Значимость различий НУ-контроль/НУ+ЦФ сохранялась в 1-, 5-, 7-, 21-е сутки (рисунок 42а). Синхронно снижались параметры базального ОМБ (карбонилированные белки и битирозин), становясь сопоставимы с исходными. Различия между аналогичными показателями контрольных и опытных животных второй серии были значимы почти во все контрольные сроки.

Уровни МКО-КБ и РАП, характеризующие устойчивость белков к окислению, у животных НУ первоначально были более высокими, что свидетельствует об исходно относительно более высоком антиоксидантом резерве тканей, который обеспечивает стабилизацию интенсивности ОМБ в ЦНС. Однако по мере развития метаболических нарушений, характерных для постгипоксического периода, это преимущество у НУ особой оказывалось недостаточным, и уровни РАП и МКО-КБ резко снижались. Регулярное введение ЦФ уравнивало ситуацию и способствовало возвращению показателей к исходным (рисунок 42вд).

Влияние цитофлавина на состояние свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в миокарде

Статистически значимое повышение содержания СОД в группе ВУ+ЦФ по сравнению с нелечеными животными мы наблюдали в первые, наиболее тяжелые, 7 дней эксперимента: минимальные значения показателя определялись в первые сутки (89% от исходных данных, против 67% в группе сравнения), максимальная концентрация фермента отмечалась на 5-е сутки – 129% от базальных значений (107% в группе сравнения) (рисунок 43а). Пик активности фермента был сдвинут, по сравнению с группой ВУ без коррекции, на один контрольный отрезок времени, т.е. на двое суток.

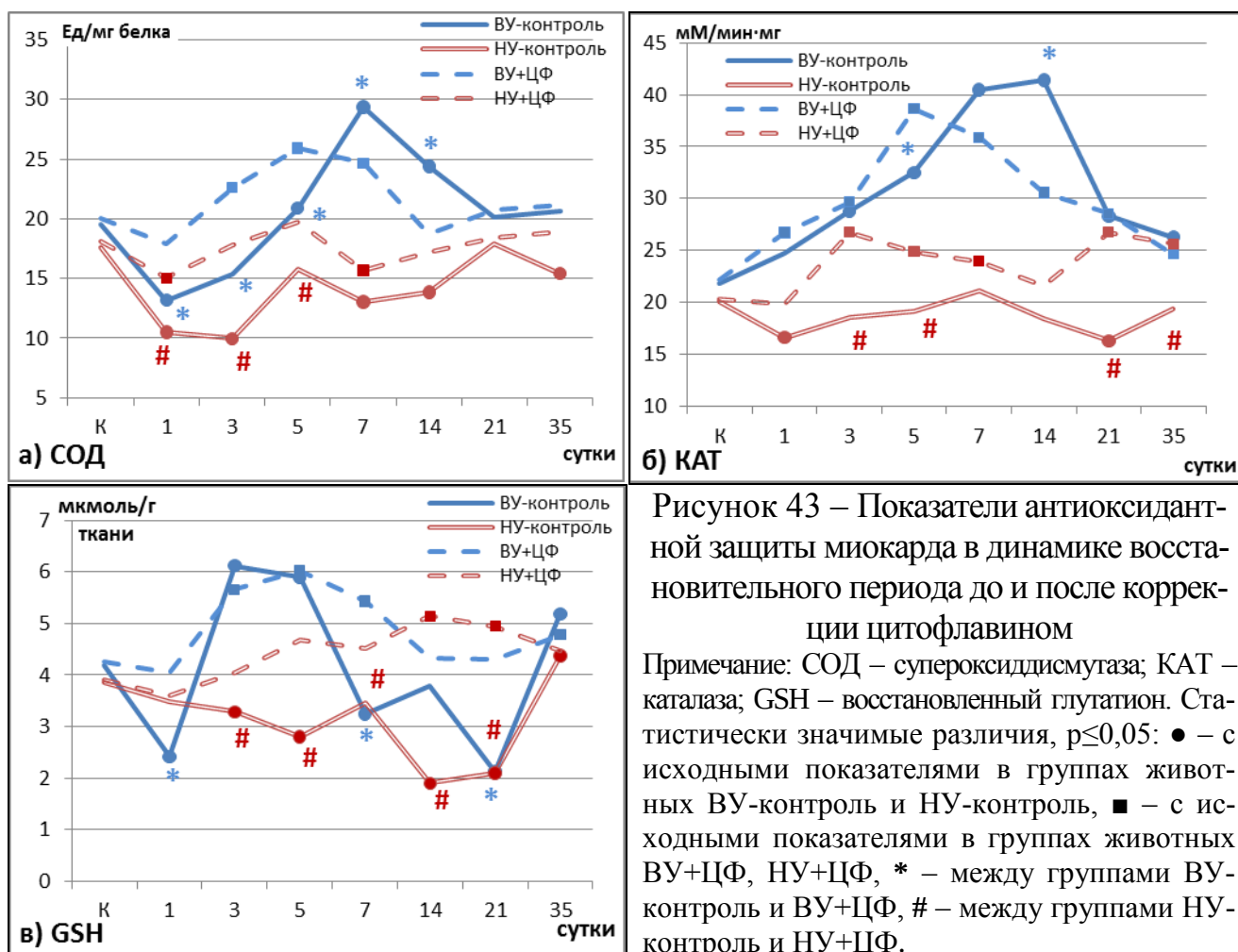


Рисунок 43 – Показатели антиоксидантной защиты миокарда в динамике восстановительного периода до и после коррекции цитофлавином

Примечание: СОД – супероксиддисмутаза; КАТ – каталаза; GSH – восстановленный глутатион. Статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах животных ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах животных ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ.

У НУ животных тяжелая гипоксия вызвала ингибирование фермента, наиболее выраженное в 1-3-и сутки восстановительного периода и сохранявшееся во все контрольные отрезки времени, кроме последнего (рисунок 43а). И

максимальный эффект цитофлавина проявился именно на 1-5-е сутки. В этот период происходило статистически значимое повышение содержания СОД по сравнению с группой НУ-контроль. С конца первой недели наблюдения уровень фермента был близок к исходным данным, не имея с ними достоверных различий.

Каталазная активность после действия системной ишемии-реперфузии достоверно снизилась только в группе НУ-контроль. Напротив, у ВУ животных мы наблюдали ее статистически значимый постепенный рост.

Коррекция ЦФ способствовала сдвигу пиковой активности каталазы у ВУ животных с 7-14-х суток (185-189% от исходного уровня соответственно, $p \leq 0,05$) на более ранний срок (5-е сутки, 174%, $p \leq 0,05$) (рисунок 43б). Различия между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ были достоверны на 5-е и 14-е сутки.

В группе НУ+ЦФ активность каталазы стала либо близка к начальным показателям (1-е сутки – 97%, 7-е – 118%, 14-е сутки – 106%), либо значимо выше их – 3-5-е, 21-35-е сутки. Различия между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ были достоверны в сроки 3-5-е, 21-35-е сутки (рисунок 43б).

Динамика содержания в миокарде GSH в группе ВУ-контроль, подверженная выраженным колебаниям, после применения цитофлавина приобрела гораздо более стабильный вид без глубоких спадов и значительных подъемов (рисунок 43в). Причем вектор изменений в основных чертах совпадал с динамикой СОД и каталазы (рисунок 43а, б). Различия в показателях GSH устойчивых к гипоксии крыс контрольной и опытной групп второй серии экспериментов были значимы в 1-, 7- и 21-е сутки.

У НУ животных применение ЦФ не привело к сколько-нибудь значительным сдвигам в содержании глутатиона в течение первых суток восстановительного периода. Однако уже с третьих суток наметился подъем показателя: сначала в виде тенденции, а затем и статистически значимый. Значимыми были и различия между группами сравнения НУ-контроль и НУ+ЦФ в период 3-21-е сутки (рисунок 43в).

Таким образом, с применением цитофлавина произошли значительные сдвиги в АОЗ миокарда. У ВУ животных это проявлялось сдвигом максимальной активности ферментов на более ранний срок на фоне стабилизации их динамики. У НУ особей наблюдалось общее повышение содержания и активности ферментов и сближение с показателями высокоустойчивых.

В условиях повышения содержания и функциональности ферментов антиоксидантной защиты в миокарде под действием ЦФ произошли существенные изменения в процессах СРО. Общей тенденцией было сближение показателей СРО ВУ и НУ животных после коррекции (рисунок 44).

В группе ВУ+ЦФ мы наблюдали снижение накопления ТБК-рп, статистически подтвержденное на 5-35-е сутки (рисунок 44а). У НУ леченых животных интенсивность ПОЛ в течение всего восстановительного периода была повышена, причем в сроки 1-, 7-, 21-, 35-е сутки значимо. Кроме того, в 1-е, 21-е и 35-е сутки отмечалась достоверность различий между группами сравнения НУ-контроль и НУ+ЦФ.

Таким образом, несмотря на снижение интенсивности ПОЛ после коррекции у ВУ животных и повышенный уровень липопероксидации у НУ, можно говорить, в целом, о большей активности процессов ПОЛ в миокарде у животных исходно более устойчивых к гипоксии.

Динамика карбонильного стресса на фоне применения ЦФ в обеих опытных группах существенно трансформировалась. Тенденция к общему снижению базального уровня ОМБ в ткани миокарда наблюдалась на всем протяжении исследования у НУ+ЦФ крыс и в период 14-35-е сутки у ВУ+ЦФ. В период 1-7-е сутки содержание карбонилированных белков у ВУ особей повышалось. Различия между результатами контрольных и опытных групп второй серии экспериментов были значимы на 3-и и 35-е сутки в обеих группах животных (рисунок 44б).

Уровень МКО-КБ вырос в обеих группах и стал сопоставим с исходными данными. Различия аналогичных показателей опытных и контрольных групп

второй серии экспериментов были значимы у ВУ крыс в 1-5-е и 35-е, у НУ в 1-е, 3-и, 7-е, 21-е и 35-е сутки (рисунок 44в).

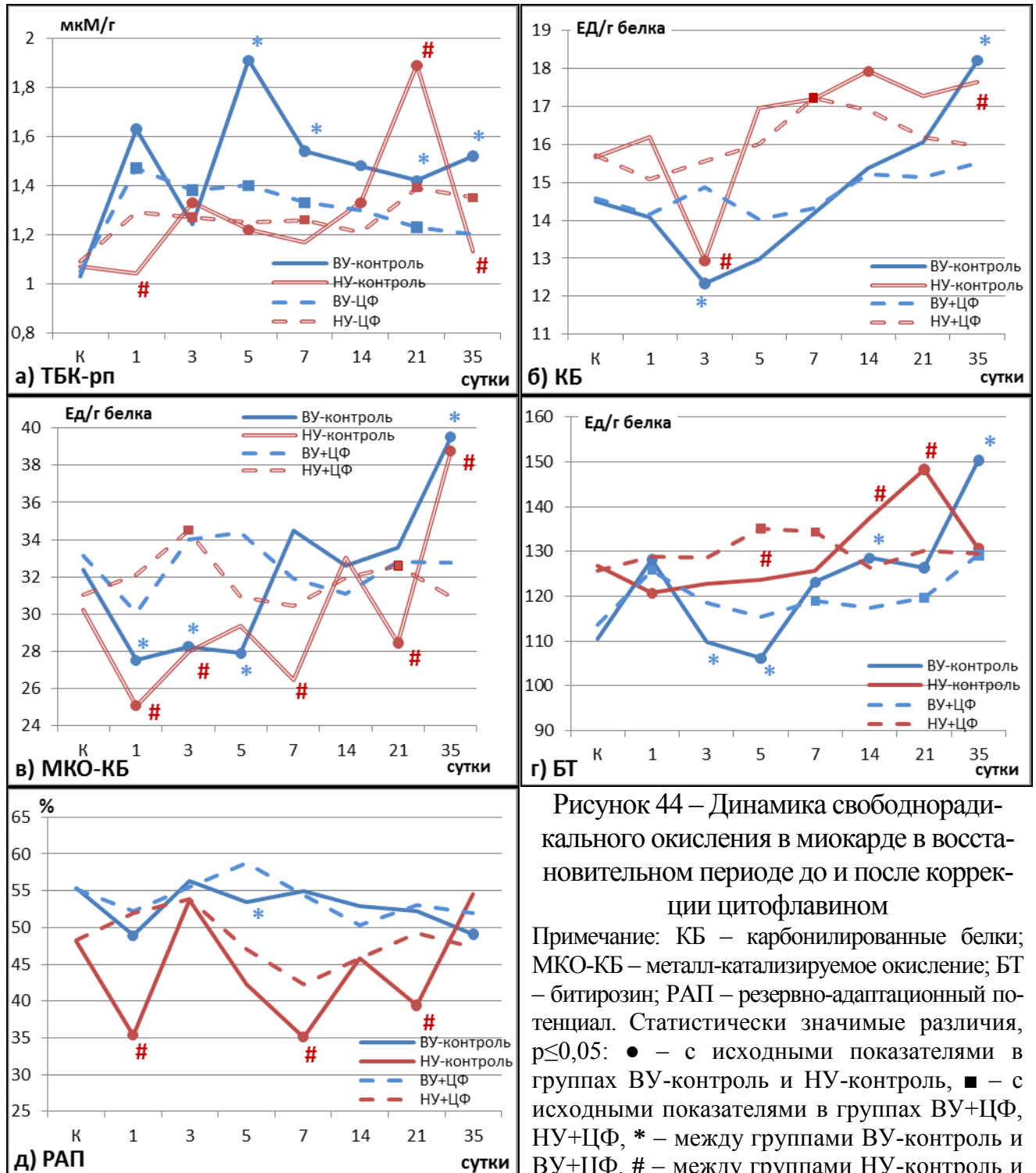


Рисунок 44 – Динамика свободнорадикального окисления в миокарде в восстановительном периоде до и после коррекции цитофлавином

Примечание: КБ – карбонилированные белки; МКО-КБ – металл-катализируемое окисление; БТ – битиризин; РАП – резервно-адаптационный потенциал. Статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ

Изменения динамики КБ и МКО-КБ ожидаемо вызвали модуляцию расчетного показателя – резервно-адаптационного потенциала. И если РАП ВУ крыс серьезно не изменился, то у НУ подвергся значительной коррекции, под-

нявшись с минимальных отметок 35-39% в 1-, 7- и 21-е сутки до 42-52% ($p \leq 0,05$) и приблизившись к показателям группы ВУ+ЦФ (рисунок 44д).

Уровень битирозина в группе НУ на фоне введения цитофлавина в 1-3-и сутки показал тенденцию к повышению, на 5-7-е сутки наблюдалось значимое увеличение показателя, а далее его уровень был сопоставим с исходным. Различия между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ были достоверны на 5-е, 14- и 21-е сутки (рисунок 44г).

Коррекция цитофлавином у ВУ животных отрегулировала динамику битирозина и стабилизировала показатель на уровне базальных значений. Различия между группами были статистически значимы в 3-, 5-, 14- и 21-е сутки (рисунок 44г).

Таким образом, применение цитофлавина в постгипоксическом периоде внесло важные коррективы в динамику свободнорадикальных процессов, существенно снизив окислительную модификацию белков и повысив резервно-адаптационный потенциал, особенно в группе низкоустойчивых крыс.

Влияние цитофлавина на состояние свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в ткани легких крыс

Введение цитофлавина внесло отчетливые коррективы в работу системы АОЗ и течение свободнорадикальных реакций в ткани легких. Изменения системы антиоксидантной защиты были однонаправлены независимо от типа стратегии адаптации и устойчивости к гипоксии.

Активность СОД, имевшая тенденцию к снижению в течение всего постгипоксического периода в обеих группах нелеченых животных, после коррекции статистически значимо повысилась: у ВУ в 3-14-е, у НУ в 3-5-е и 35-е сутки. При этом показатели в обеих группах были сопоставимы с исходными (рисунок 45а).

Применение антиоксидантного комплекса не вызвало принципиальных изменений в каталазной активности у ВУ животных. В то же время НУ особи отреагировали достоверным повышением активности фермента (по сравнению с

нелечеными) в большинстве контрольных отрезков времени, причем, начиная с 5-х суток, исследуемый показатель превысил исходные значения (рисунок 45б).

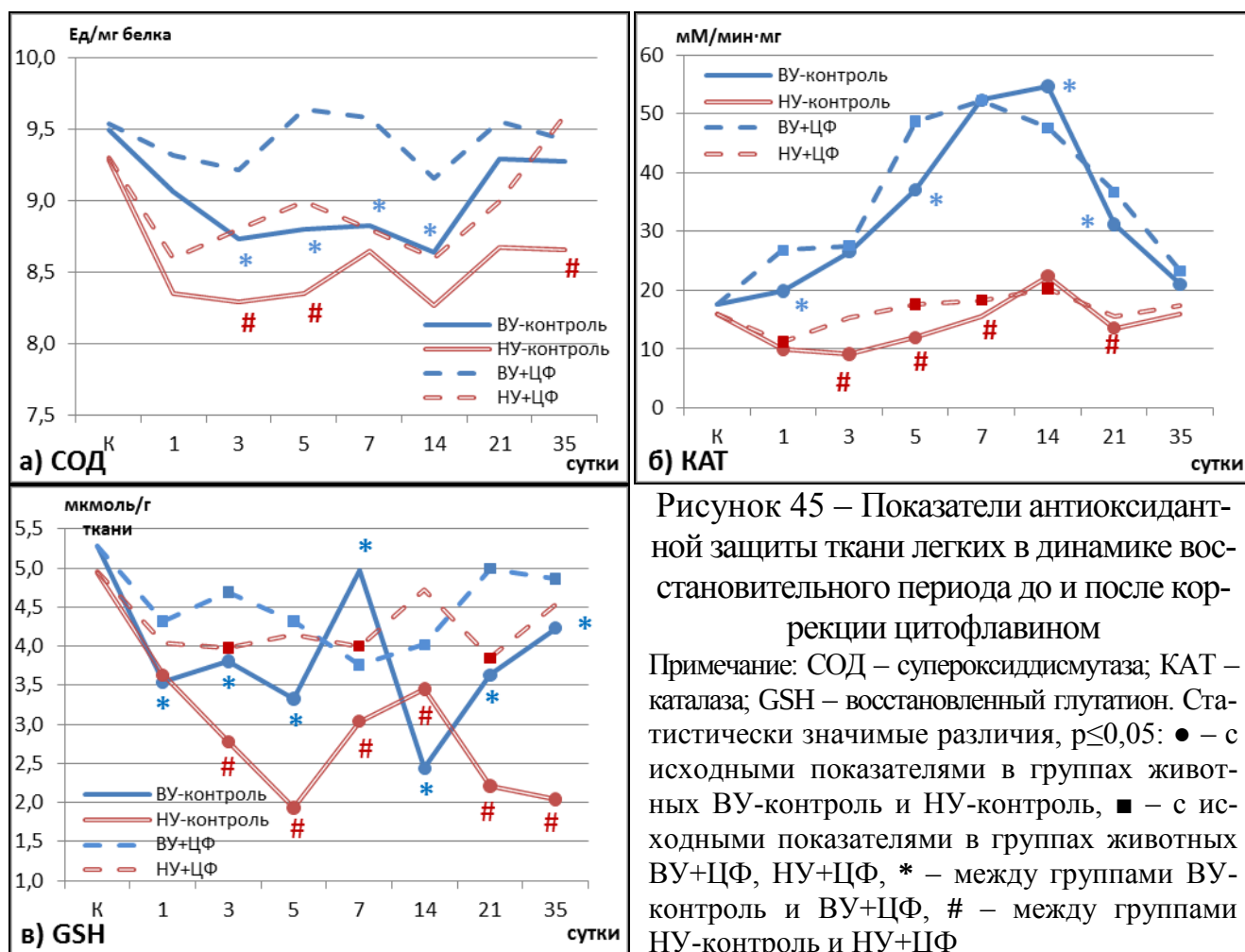
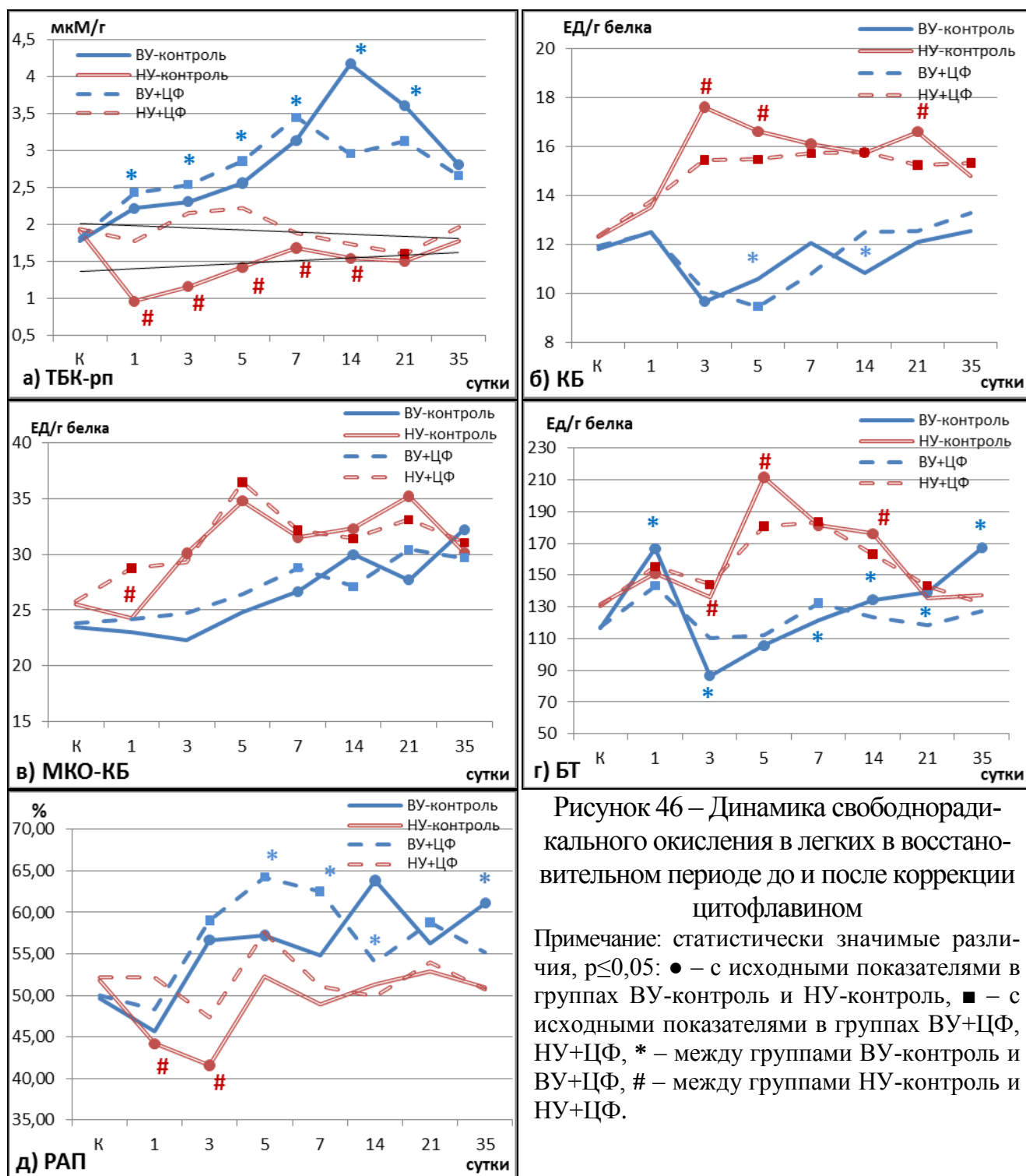


Рисунок 45 – Показатели антиоксидантной защиты ткани легких в динамике восстановительного периода до и после коррекции цитофлавином

Примечание: СОД – супероксиддисмутаза; КАТ – каталаза; GSH – восстановленный глутатион. Статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах животных ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах животных ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ

ЦФ статистически значимо снизил дефицит GSH в обеих группах и стабилизировал его динамику. Минимальные уровни у ВУ животных после коррекции поднялись с 46% ($p \leq 0,05$) до 71% от исходных данных ($p \leq 0,05$), а у НУ с 39% ($p \leq 0,05$) до 78% ($p \leq 0,05$). К окончанию периода наблюдения содержание GSH в обеих группах приблизилось к базальным величинам. Таким образом, применение ЦФ наиболее существенно воздействовало именно на НУ крыс, оказав в целом позитивное влияние на состояние АОЗ обеих групп животных (рисунок 45в).

Разнонаправленность реакции звеньев СРО у ВУ и НУ животных, а также реципрокность взаимоотношений динамики ПОЛ и ОМБ сохранились и после коррекции цитофлавином (рисунок 46а-д).



Линия тренда динамики липопероксидации ВУ крыс свидетельствовала об общем уменьшении интенсивности ПОЛ после коррекции цитохлорином. Максимальный уровень содержания ТБК-рп снизился с 235% до 190% ($p \leq 0,05$). В то же время аналогичный показатель НУ крыс, существенно подавленный у контрольных животных второй серии (в первые сутки в 2 раза, $p \leq 0,05$), после применения ЦФ значимо повысился и стал близок исходным величинам.

Показатели ОМБ как базальной, так и индуцированной, а также битирозина, напротив, были выше у нелеченых НУ крыс (рисунок 46б-г). Эти изменения сопровождались снижением РАП (рисунок 46д). Использование ЦФ повысило устойчивость белков к окислительной модификации: у НУ+ЦФ животных снижались базальный уровень ОМБ и содержание битирозина, при этом величина металл-катализируемого окисления почти не изменилась, тем не менее нормализовался интегральный показатель состояния ОМБ – РАП.

У ВУ животных после введения ЦФ было зарегистрировано статистически значимое снижение интенсивности ОМБ в сроки 14-35-е сутки по уровню карбонилированных белков и битирозина. Индуцированное окисление (МКО-КБ) почти не изменилось, при этом на поздних сроках вырос показатель РАП (рисунок 46б-д).

Таким образом, в ткани легких после ежедневного в течение 10 дней введения цитофлавина наблюдалась трансформация проявлений окислительного стресса, у низкоустойчивых крыс проявившаяся преимущественно в снижении интенсивности ОМБ, у высокоустойчивых – липопероксидации.

Влияние цитофлавина на состояние свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в ткани почек крыс

Антигипоксический комплекс оказал существенное влияние на динамику СРО и различных звеньев антиоксидантной защиты почек. Введение ЦФ ликвидировало дефицит СОД в группе ВУ+ЦФ уже к 3-м суткам, далее содержание фермента поддерживалось на уровне исходных значений (рисунок 47а).

В группе НУ+ЦФ восстановление активности СОД происходило медленнее: к 5-м суткам показатель достиг контрольных величин, к 7-м вновь снизился (83% от контроля, $p \leq 0,05$) и лишь к окончанию наблюдения вернулся к исходным значениям. Обращает на себя внимание совпадение динамики СОД группы ВУ-контроль и НУ+ЦФ, т.е. введение ЦФ приводит состояние АОЗ почек НУ крыс к состоянию аналогичной защиты нелеченых устойчивых животных.

Тенденции, характерные для динамики каталазы в группах без коррекции, сохранились и после применения ЦФ. В группе ВУ+ЦФ максимум активности

каталазы отмечался уже к концу первых 24 часов наблюдения (155%, $p \leq 0,05$) и далее, почти везде сохраняя статистически значимые отличия, уровень фермента держался выше исходных значений (рисунок 47б).

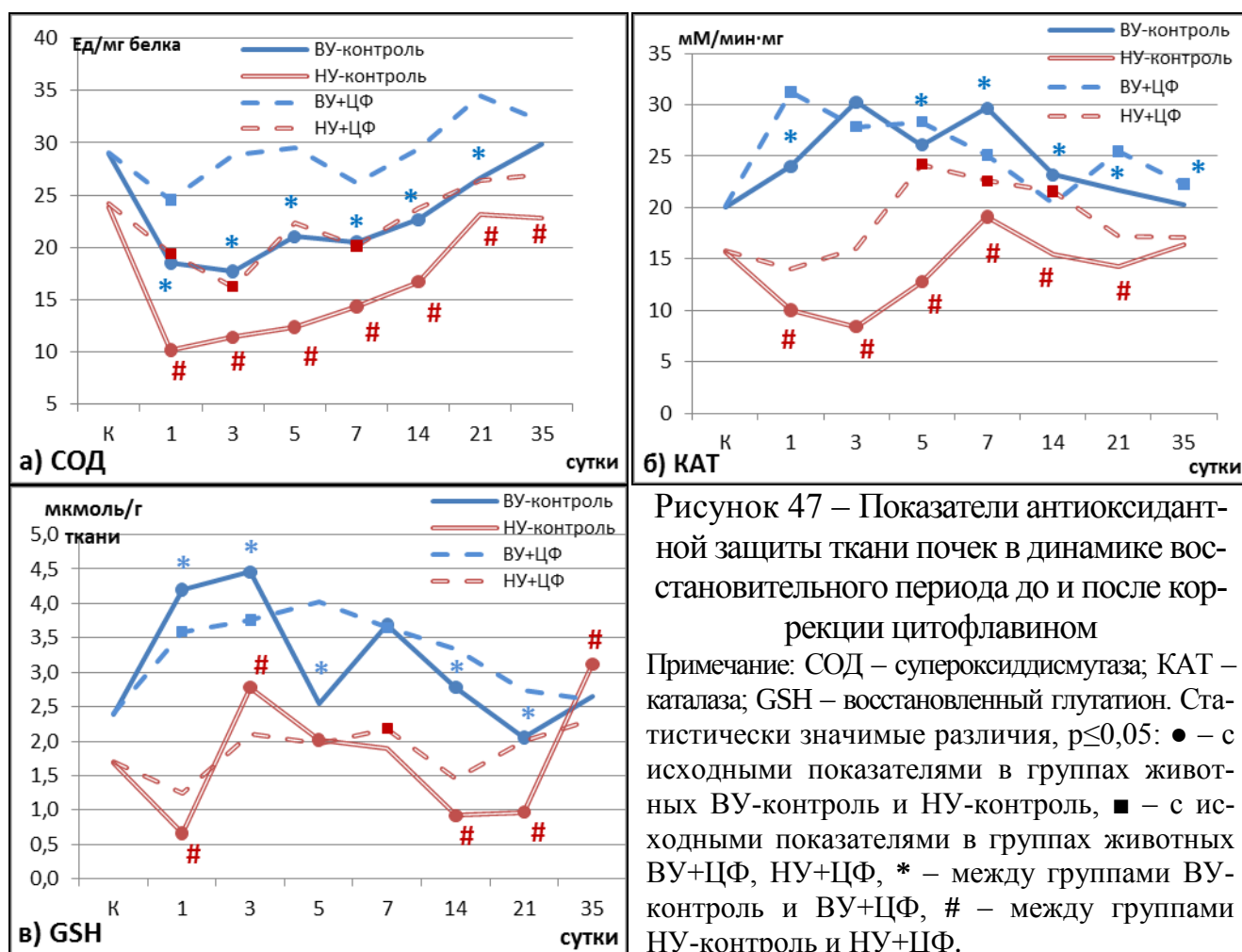


Рисунок 47 – Показатели антиоксидантной защиты ткани почек в динамике восстановительного периода до и после коррекции цитофлавином

Примечание: СОД – супероксиддисмутаза; КАТ – каталаза; GSH – восстановленный глутатион. Статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах животных ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах животных ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ.

В группе НУ+ЦФ только в первые сутки каталазная активность была ниже контроля (89%, $p \leq 0,05$), к третьим сравнивалась с базальными величинами фермента, а к пятым (на один контрольный отрезок времени раньше, чем в первой серии) достигала максимальных значений и уже была значимо выше исходных данных (рисунок 47б). Различия между одноименными опытными и контрольными группами (ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, НУ-контроль и НУ+ЦФ) были достоверны почти во всех контрольных точках.

Аналогичным образом складывалась ситуация вокруг еще одного звена АОЗ – восстановленного глутатиона. Коррекция течения восстановительного периода антиоксидантным комплексом минимизировала в обеих группах разли-

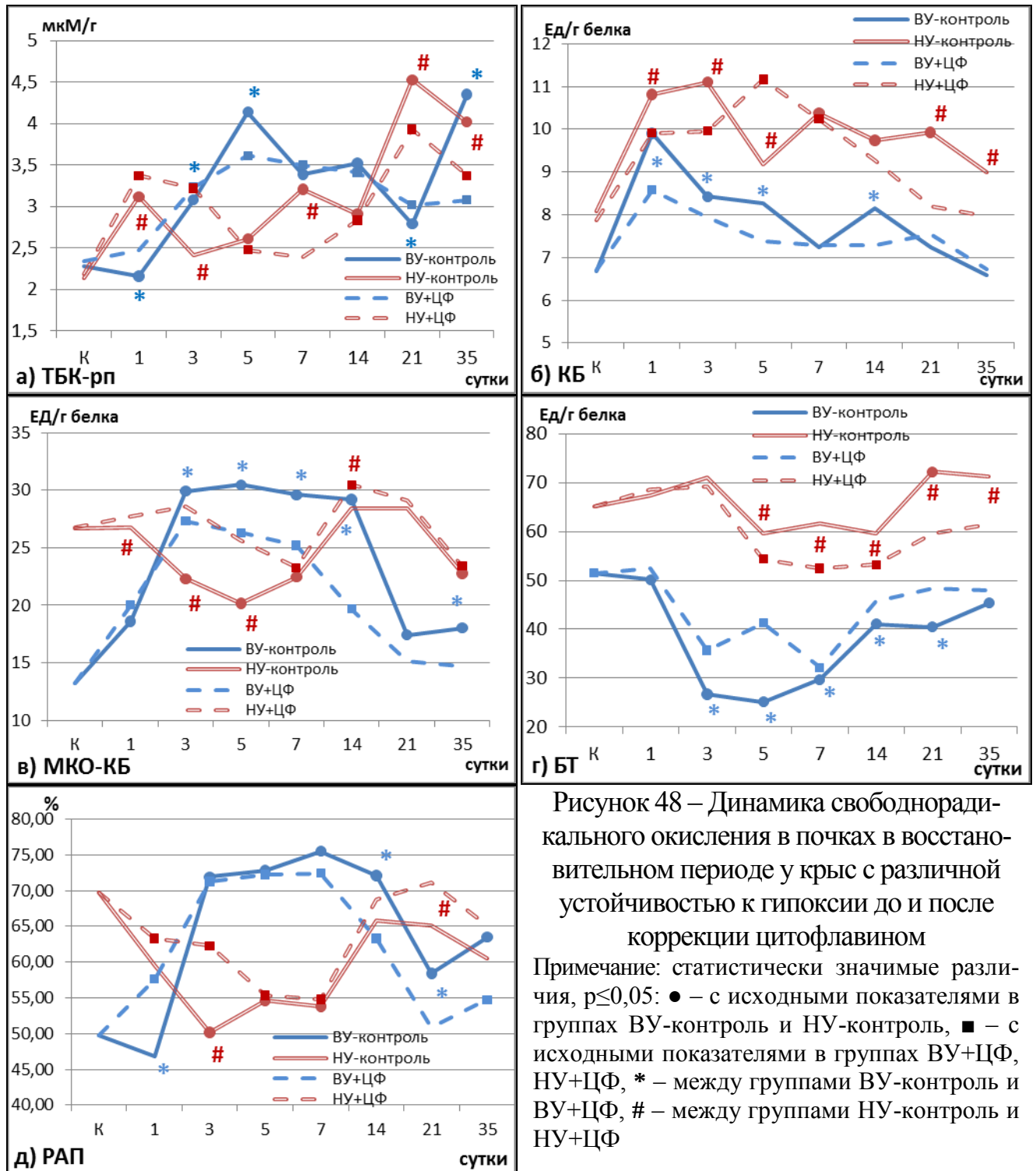
чия с исходными данными и способствовала сближению показателей GSH групп ВУ+ЦФ и НУ+ЦФ между собой (рисунок 47в). Различия между одноименными опытными и контрольными группами второй серии были значимы в большинстве точек наблюдения.

Исходные особенности аэробного метаболизма нашли отражение и в свободнорадикальных реакциях ткани почек на системную гипоксию. Для ВУ животных было характерно постепенное усиление ПОЛ на ранних стадиях восстановительного периода, для НУ – на поздних (рисунок 48а).

ЦФ несколько стабилизировало динамику липопероксидации у НУ крыс, тем не менее определенная стадийность сохранилась: повышение в 1-е и 21-е сутки (при этом максимальный ее уровень снизился с 212% в группе без коррекции до 180% в группе НУ+ЦФ) и снижение до исходных значений в 5-14-е (рисунок 48а). У животных с высокой устойчивостью к гипоксии, несмотря на общее снижение интенсивности процессов ПОЛ, на протяжении всего восстановительного периода сохранялся статистически значимо повышенный уровень ТБК-рп (рисунок 48а).

Базисные отличия в уровне ОМБ в почках у НУ животных, для которых характерна ее более высокая интенсивность, сохранялись в контрольной группе в течение всего периода наблюдения после моделирования системной гипоксии и оказали влияние на динамику карбонильного стресса на фоне коррекции (рисунок 48б-д). В группе НУ-контроль второй серии уровень карбонилированных белков и битирозина превышал аналогичные показатели животных с высокой устойчивостью к гипоксии на протяжении всех пяти недель исследования. Для крыс из группы ВУ-контроль была характерна нормализация процессов ОМБ на поздних сроках наблюдения.

Во второй серии на фоне применения цитофлавина уровень неиндуцированного карбонилирования у НУ крыс значимо снизился параллельно с нормализацией металл-катализируемого окисления белков (рисунок 48 б-в), что к окончанию периода наблюдения закономерно привело к восстановлению резервно-адаптационного потенциала (рисунок 48 г).



Таким образом, окислительный стресс у высокоустойчивых животных проявился только усилением липопероксидации. У животных с исходно низкой устойчивостью к гипоксии окислительный стресс осложнился проявлениями карбонильного стресса, интенсивность которого не снизилась даже к окончанию пяти недель наблюдения. Введение ЦФ с целью коррекции метаболических

нарушений снизило интенсивность окислительной модификации белков, особенно в группе неустойчивых к гипоксии животных, а также лимитировало проявления липопероксидации в обеих группах животных.

Влияние цитофлавина на состояние свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в ткани печени крыс

Системная ишемия и реперфузия вызвали значительные изменения в системе антиоксидантной защиты печени, которые зависели от устойчивости к гипоксии: у животных с низкой резистентностью на всем протяжении восстановительного периода наблюдалось устойчивое подавление всего комплекса антиоксидантной защиты, в то время как у ВУ только частичное (рисунок 49).

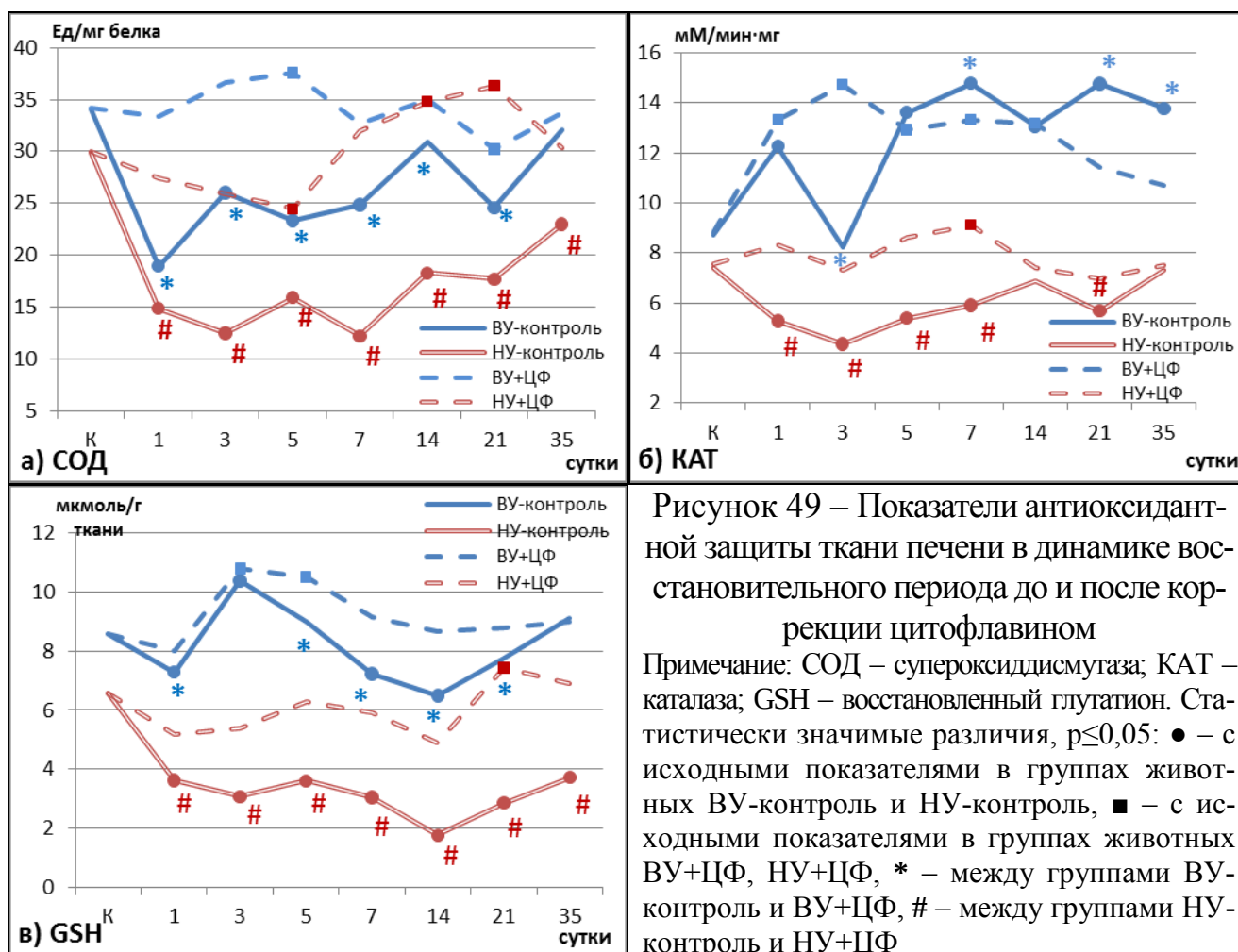


Рисунок 49 – Показатели антиоксидантной защиты ткани печени в динамике восстановительного периода до и после коррекции цитофлавином

Примечание: СОД – супероксиддисмутаза; КАТ – каталаза; GSH – восстановленный глутатион. Статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах животных ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах животных ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ

Коррекция комплексом «Цитофлавин» существенно изменила расстановку сил. У ВУ крыс значительно возросла активность ключевых ферментов АОЗ: СОД восстановилась до контрольных значений, а активность каталазы, увели-

чившись до 1,7 раз, удерживалась на этом уровне до окончания эксперимента (рисунок 49а-б). Клеточное звено АОЗ под влиянием ЦФ также нормализовалось гораздо быстрее: уже на 3-и сутки пул восстановленного глутатиона превышал исходные данные (126%, $p \leq 0,05$) и далее ниже контроля не опускался (рисунок 49в). Различия между показателями леченых и нелеченых крыс были статистически значимы почти на всем протяжении восстановительного периода (рисунок 49а-в).

Вектор изменений АОЗ у НУ крыс после коррекции был направлен на восстановление активности основных ее звеньев, что и было статистически подтверждено (рисунок 49а-в).

У контрольных животных без коррекции были выявлены существенные отличия течения процессов липопероксидации, зависящие от фенотипа устойчивости к гипоксии: у особей с высокой резистентностью регистрировалось усиление ПОЛ на всем протяжении восстановительного периода, а у низкоустойчивых – выраженное снижение интенсивности ПОЛ. Регулярное введение ЦФ, не изменив принципиально картины, уменьшило разрыв между уровнями продуктов перекисного окисления липидов контрольной и опытной групп животных с разной устойчивостью к гипоксии, при этом различия между сериями были достоверны на всем протяжении восстановительного периода (рисунок 50а).

Кроме указанных различий в уровне липопероксидации была выявлена обратная зависимость между ПОЛ и ОМБ: процесс карбонилирования белков был более выражен у НУ животных (рисунок 50б). Введение ЦФ в постгипоксическом периоде почти не изменило базальное и индуцированное карбонилирование белков в группе ВУ+ЦФ и, соответственно, РАП, но способствовало нормализации содержания битирозина (рисунок 50г).

Влияние ЦФ на процессы ОМБ в группе НУ было более значительным. Статистически значимо снизились уровни карбонилированных белков в 1-е, 5-14-е сутки, МКО-КБ в 1-3-и и 21-е. Существенно повысился резервно-адаптационный потенциал, особенно в период 5-14-е сутки (рисунок 50б-д).

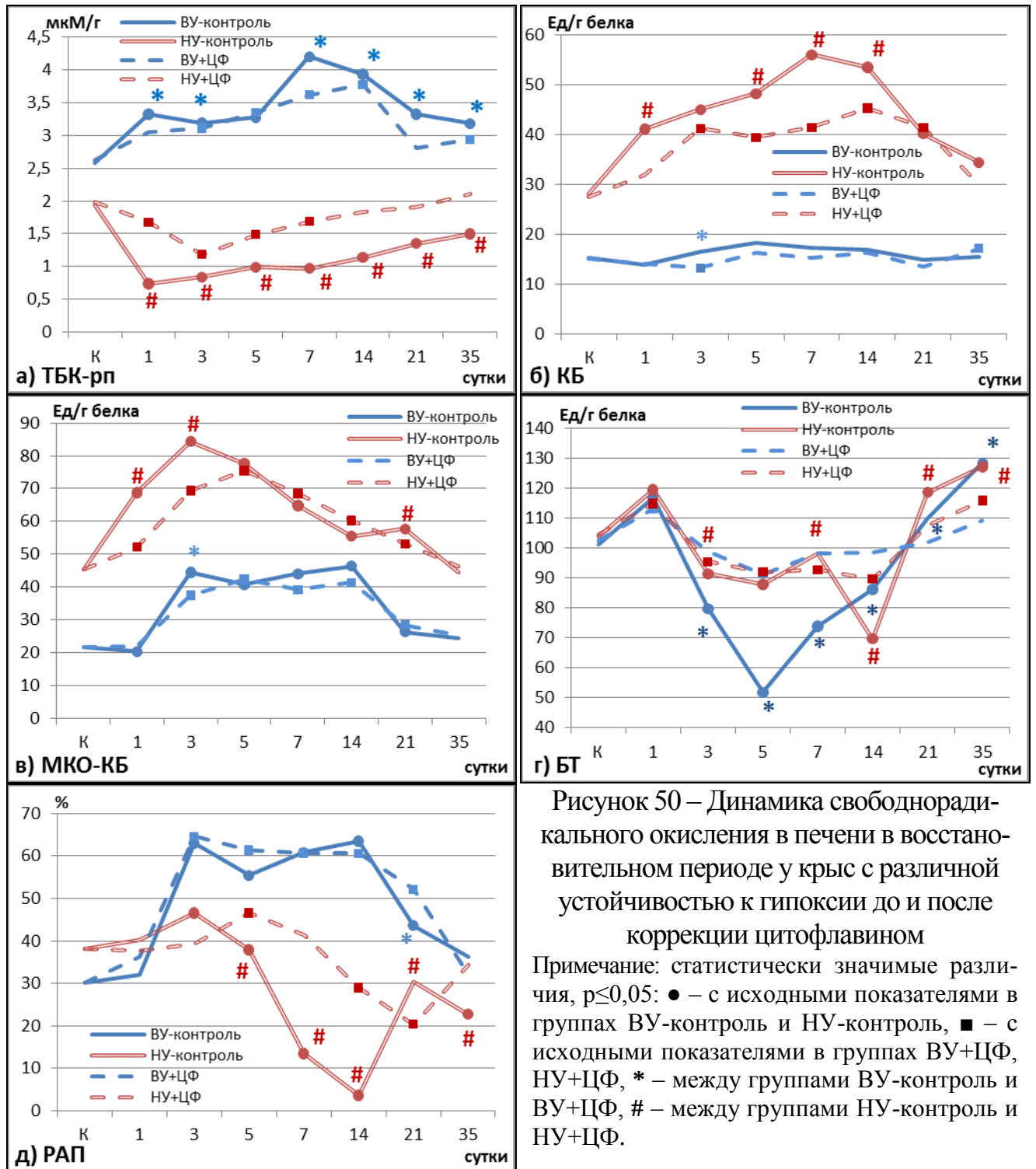


Рисунок 50 – Динамика свободнорадикального окисления в печени в восстановительном периоде у крыс с различной устойчивостью к гипоксии до и после коррекции цитофлавином

Примечание: статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ.

**Влияние цитофлавина на состояние свободнорадикального окисления и
антиоксидантной защиты в крови крыс с разной устойчивостью
к гипоксии**

Большой практический интерес представляет изменение в крови крыс в течение постреанимационного периода показателей СРО и АОЗ, которые могут служить своего рода предикторами эффективности проводимой коррекции.

Применение ЦФ в ходе реанимационных мероприятий и далее на протяжении 10 суток, влияя на антиоксидантный потенциал крови, трансформировало процессы ПОЛ и ОМБ. Мы обнаружили, что метаболические сдвиги, вызванные применением ЦФ, в целом одинаково направлены независимо от фенотипа устойчивости к гипоксии, отличается только их выраженность.

Коррекция постгипоксического состояния ЦФ у ВУ крыс снизила степень ингибирования глутатионпероксидазы к концу первых суток на 9% (с 63% в группе ВУ-контроль до 72% от исходного уровня в группе ВУ+ЦФ, $p \leq 0,05$). Наиболее демонстративные изменения произошли на 3-и сутки, когда вместо продолжающегося снижения активности ГПО, которое мы наблюдали в группе животных без коррекции, отмечалось ее повышение. В последующие дни фиксировали постепенный рост показателя, который к 7-м суткам достиг исходных цифр и затем превысил их. Различия в группах сравнения ВУ-контроль и ВУ+ЦФ были достоверны в 3-и и 14-е сутки (рисунок 51а).

У НУ крыс статистически значимые различия между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ были отмечены на 1-е (65% и 80% от уровня контроля соответственно) и 14-е сутки (71% и 92%), в остальные сроки наблюдалась тенденция к повышению. Тем не менее активность ГПО не превысила контрольных значений, хотя и приблизилась к ним (рисунок 51а).

Каталазная активность на фоне коррекции ЦФ в группе ВУ крыс значимо повысилась уже к концу первых суток наблюдения. Этот подъем сохранялся в течение трех суток, затем произошло снижение уровня каталазы до контрольных значений. Различия между животными групп ВУ-контроль и ВУ+ЦФ были достоверны во все сроки, кроме 3-х и 14-х суток (рисунок 51в).

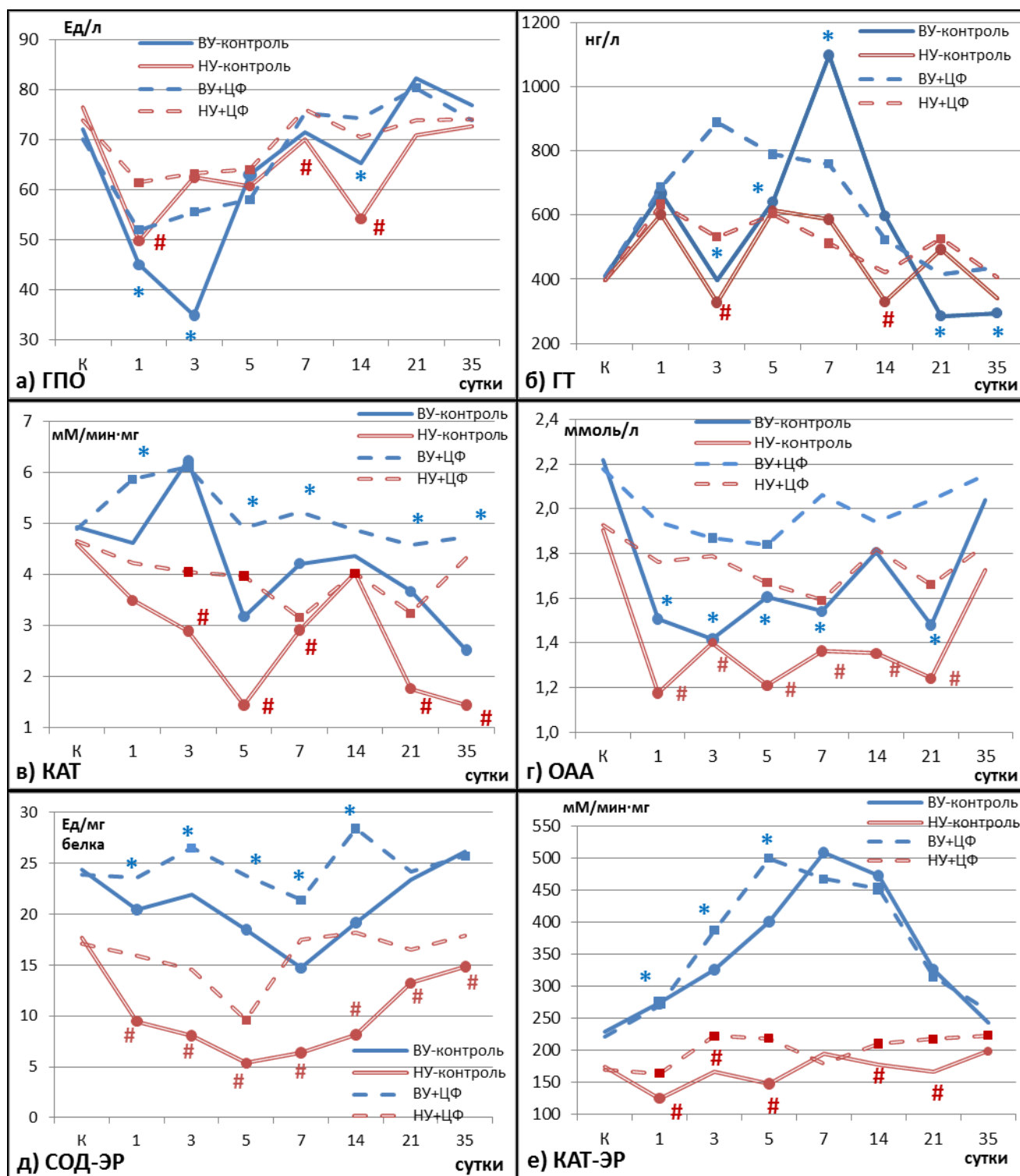


Рисунок 51 – Показатели антиоксидантной активности крови в динамике восстановительного периода до и после коррекции цитофлавином

Примечание: ГПО – глутатионпероксидаза плазмы; ГТ – глутатионтрансфераза плазмы; КАТ – каталаза плазмы; ОАА – общая антиоксидантная активность крови; СОД-ЭР и КАТ-ЭР – супероксиддисмутаза и каталаза эритроцитов. Статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах животных ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах животных ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ

Использование в постреанимационном периоде ЦФ в группе НУ крыс хотя и не привело к полному восстановлению активности каталазы, но минимизировало ущерб, ограничив степень ингибирования фермента, что было статистически подтверждено (рисунок 51в).

Уровень глутатионтрансферазы у ВУ крыс на фоне коррекции в течение всего восстановительного периода превышал исходные значения. Максимум ГТ отмечался на 3-и сутки и достигал 218% от базальных значений ($p \leq 0,05$) (рисунок 51б). Различия между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ были достоверны во все контрольные отрезки времени, кроме 1-х и 14-х суток.

Почти также отреагировала активность фермента на введение ЦФ и в группе НУ крыс (рисунок 51б). Здесь максимальные значения были зафиксированы на 1-е и 5-е сутки (160% и 152% соответственно, $p \leq 0,05$), а уровень активности ГТ не опускался ниже контрольных значений. Различия между группами сравнения были достоверны на 3-, 7-, 14-е сутки.

Общей антиоксидантной емкости крови в ходе системной гипоксии и последующей реперфузии был нанесен значительный ущерб, величина которого не зависела от устойчивости к гипоксии (рисунок 51г). Применение цитофлавина в восстановительном периоде минимизировало эти нарушения, не восстановив, однако, показатель до исходных значений. Статистическая значимость различий между результатами одноименных контрольных и опытных групп второй серии была отмечена почти во все контрольные сроки.

Антиоксидантный потенциал крови в значительной степени зависит от активности ферментов эритроцитов – супероксиддисмутазы и каталазы. Баланс этих ферментов способен определять функциональность эритроцитов, так как каталаза предохраняет СОД от инактивации избытком пероксида водорода, а СОД нейтрализует супероксид и защищает каталазу от его ингибирующего влияния. При этом снижается восстановление Fe^{3+} и лимитируется образование мощного прооксиданта $\text{HO}^\bullet$ [45].

Системная гипоксия вызывает снижение уровня СОД эритроцитов, степень которого зависит от фенотипа устойчивости крыс. Начиная с конца первой

недели восстановительного периода у контрольных ВУ животных отмечается градуальное восстановление содержания СОД, сопровождаемое взрывным ростом активности каталазы (в 2,2 раза, $p \leq 0,05$) (рисунок 51е). Применение цитофлавина сдвигает пик активности каталазы эритроцитов ВУ крыс на более ранний срок. При этом содержание СОД в группе ВУ+ЦФ становится близким к исходным показателям, а на 3-и, 7-, 14-е сутки имеет значимые отличия от группы ВУ-контроль (рисунок 51д).

В контрольной группе у НУ особей после моделирования системной гипоксии отмечалось глубокое статистически значимое ингибирование СОД эритроцитов, особенно значительное в период 1-7-е сутки (рисунок 51д). Динамике СОД НУ крыс при коррекции цитофлавином был свойственен нелинейный характер с минимумом на 5-е сутки и восстановлением показателя к концу наблюдения (значимость различий между группами сравнения наблюдалась в 1-14е сутки). Восстановлению функциональности СОД в группе НУ+ЦФ в определенной степени способствовало сохранение активности каталазы эритроцитов (рисунок 51е).

Таким образом, цитофлавин существенно нивелирует различия в ферментативной защите животных с разной устойчивостью к гипоксии, повышая их антиоксидантный потенциал, и это модифицирует течение свободнорадикальных реакций.

Реципрокные отношения между уровнями ПОЛ и ОМБ в плазме крови, характерные для первой серии экспериментов, сохраняются в целом и при коррекции течения восстановительного периода ЦФ (рисунок 52).

Следует отметить, что общая активность липопероксидации в плазме крыс группы ВУ+ЦФ по сравнению с нелечеными животными снизилась, что особенно демонстративно проявлялось в подостром периоде эксперимента (14-21-е сутки). Различия между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ были значимы на 3-и, 14-35-е сутки (рисунок 52а).

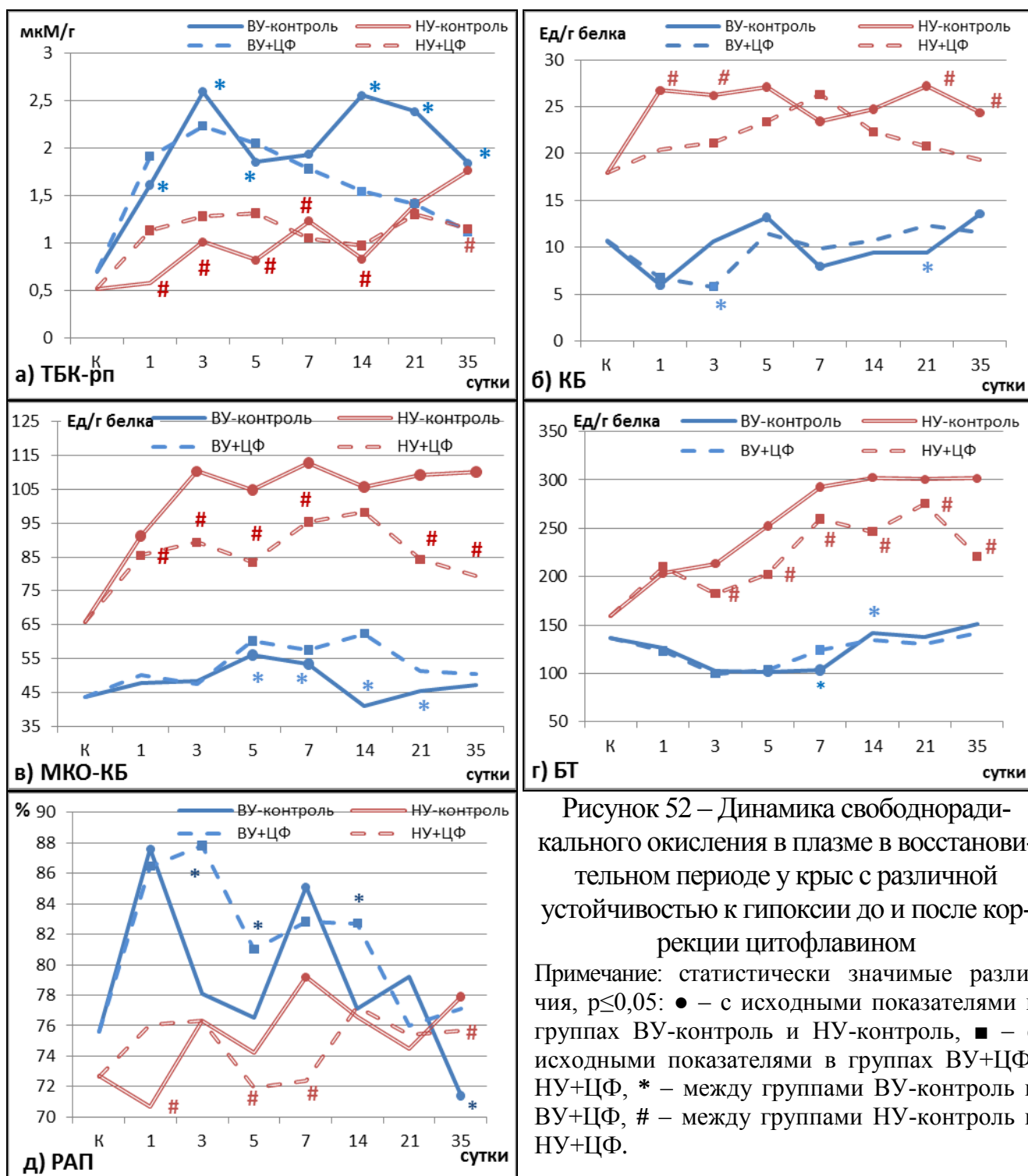


Рисунок 52 – Динамика свободнорадикального окисления в плазме в восстановительном периоде у крыс с различной устойчивостью к гипоксии до и после коррекции цитофлавином

Примечание: статистически значимые различия, $p \leq 0,05$: ● – с исходными показателями в группах ВУ-контроль и НУ-контроль, ■ – с исходными показателями в группах ВУ+ЦФ, НУ+ЦФ, * – между группами ВУ-контроль и ВУ+ЦФ, # – между группами НУ-контроль и НУ+ЦФ.

На фоне снижения активности ПОЛ процессы ОМБ в этой группе животных по всем определяемым параметрам сохранялись, в целом, на том же уровне, что и в группе без коррекции, лишь сдвигаясь по минимальным показателям с первых на третьи сутки (рисунок 52б). Закономерным следствием этого было общее повышение РАП и смещение его максимума на 3-и сутки (рисунок 52д).

У животных НУ к гипоксии введение ЦФ несколько повысило активность липопероксидации в ранние сроки постреанимационного периода (на 1-е и 5-е сутки, $p \leq 0,05$) и снизило в поздние. Так уровень ТБК-рп к 35-м суткам в группе НУ+ЦФ составил 225% от исходных значений ($p \leq 0,05$) против 345% в группе НУ-контроль ($p < 0,05$) (рисунок 52а).

На фоне относительно низких значений ПОЛ у крыс группы НУ-контроль наблюдалась большая активность процессов ОМБ. И эта особенность сохранилась и после коррекции цитофлавином. Высокое содержание карбонилированных белков, битирозина, усиление металл-катализируемого окисления определялись в течение всего постгипоксического периода. Однако уровень этих показателей почти во все контрольные отрезки времени был значимо ниже аналогичных показателей группы сравнения (рисунок 52б-г).

Известно, что изменения уровня продуктов свободнорадикального окисления наблюдается в результате: 1) изменения количества и/или доступности субстратов для свободнорадикальных процессов 2) изменения количества и/или активности прооксидантов, влекущее за собой изменение образования свободных радикалов); 3) изменения количества и/или активности компонентов антиоксидантной системы [46; 112].

Применение цитофлавина, сдвигая баланс между про- и антиоксидантными системами в пользу последних, косвенно способствует изменению количества и/или доступности субстратов для свободнорадикальных процессов. У высокоустойчивых крыс это приводит к нормализации динамики основных антиоксидантов и снижению процессов ПОЛ. У низкоустойчивых снижается, в основном, интенсивность карбонильного стресса, являющегося основным проявлением оксидативного стресса в этой группе животных.

Глава 7. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Многочисленными клинико-экспериментальными исследованиями установлено, что клиническая смерть и последующее оживление организма вызывают тяжелые нарушения функций жизненно важных органов и систем [68; 104; 120], индуцируют множество как повреждающих [91; 134], так и защитных [47; 65] реакций.

Несмотря на универсальность системного ответа, степень повреждения и возможности восстановления организма после гипоксического воздействия чрезвычайно вариабельны [85]. В любой популяции неинбредных животных существуют особи, отличающиеся по устойчивости к гипоксии [14; 60]. Метаболическое обеспечение адаптивно-компенсаторного ответа на острую гипоксию, его нейрогуморальная регуляция, функциональное состояние центральной нервной системы у высокоустойчивых и низкоустойчивых к гипоксии животных имеют существенные различия в широком диапазоне параметров, которые сохраняются на системном, тканевом, клеточном и субклеточном уровнях и, безусловно, могут определять выживаемость животных после тяжелой острой гипоксии и восстановление функций [50; 82; 83]. В связи с этим актуальным является изучение закономерностей поражения и восстановления организма на различных уровнях системной организации с учетом резистентности к гипоксии. Широко изучаются количественные, качественные и функциональные изменения при локальной гипоксии сердца, мозга, печени и других органов [26; 133; 164]. Однако несмотря на наличие ряда обобщающих работ, множество вопросов, касающихся системных механизмов развития метаболических и функциональных нарушений в длительном постгипоксическом периоде остаются нераскрытыми.

При выборе модели эксперимента руководствовались принципом максимальной приближенности к проблемам практической медицины. Как правило, в качестве экспериментальной модели системной гипоксии используются гипобарическая или гемическая гипоксия, острая кровопотеря в объеме 2% от массы

животного (циркуляторная), либо модели локальной ишемии (мозга, сердца, почек). Длительность наблюдения в подавляющем большинстве исследований не превышает 24 часов [38; 74].

Модель системной экстремальной гипоксии практически не применяется ввиду сложности воспроизведения. Вместе с тем на практике нередко приходится иметь дело с тотальной гипоксией, вызванной именно остановкой кровообращения вследствие действия разнообразных причин: фибрилляции сердца, травматического повреждения органов грудной и брюшной полостей, конечностей, черепно-мозговой травмы. Передозировка либо нарушение правил введения лекарственных препаратов (новокаинамид, бета-блокаторы, соли калия и др.), несоблюдение правил проведения (недостаточный выбор показаний, неадекватное обезболивание, грубые манипуляции) бронхоскопии, катетеризации крупных магистральных сосудов, полостей сердца, ангиокардиографии и других инвазивных методов диагностики и лечения также могут вызвать остановку сердца.

В связи со сказанным выбор экспериментальной модели исследования был решен в пользу модели пережатия сосудисто-нервного пучка сердца у крыс длительностью 5 минут с последующей реанимацией по методике В.Г. Корпачева и соавт. (1982) [70].

Полученные результаты свидетельствуют о значительном повреждающем действии тяжелой гипоксии, вызванной пятиминутным прекращением кровообращения, что нашло отражение в функциональных и метаболических нарушениях, интенсивность которых зависела от устойчивости к гипоксии.

Влияние устойчивости к гипоксии на особенности стрессовой трансформации нейрогуморальной системы и проявления оксидативного стресса в центральной нервной системе

По нашим данным, на результат реанимации оказала влияние резистентность к гипоксии: среди ВУ крыс доля успешно оживленных была выше (89,6%), чем среди НУ (74,7%), кроме того, ВУ животные опережали НУ по

срокам восстановления основных параметров жизнедеятельности во время реанимации.

Интересно, что длительность агонального периода была больше у крыс с низкой устойчивостью к гипоксии, что, на наш взгляд, отражает особенности резистентной стратегии адаптации, основной составляющей которой является реализация реакции «борьба-бегство» [76; 159]. Интенсивное использование ресурсов, расточительный расход энергии во время более длительной агонии является одним из факторов, определяющим худший результат реанимационных мероприятий.

Летальность в постреанимационном периоде у толерантных к гипоксии ВУ крыс ожидаемо была ниже (17,6%), чем в оппозитной группе (25,3%), причем случаи смертельных исходов фиксировались только в первые 7 суток, в то время как у НУ встречались вплоть до 21-х. Восстановительные процессы в центральной нервной системе у животных с высокой устойчивостью к гипоксии характеризовались более быстрой положительной динамикой, что отражалось на величине интегрального показателя общего состояния животного, стандартизованного и выраженного в баллах [56; 90].

При сопоставлении результатов гистологического и нейрофизиологического методов исследования были выявлены морфофункциональные параллели между динамикой структурных изменений в коре головного мозга крыс с разной резистентностью к гипоксии и выраженностью неврологических нарушений. Более позднее неврологическое восстановление в группе НУ к гипоксии животных происходило на фоне более значительных морфологических изменений. Сравнительное исследование гистологической картины фронтальной зоны коры больших полушарий крыс с исходно различной устойчивостью к гипоксии показало, что уже к концу первых суток у НУ животных на фоне неспецифических общих дистрофических изменений более выражено нарушалась citoархитектоника нейронов со снижением клеточной плотности и экспрессии глиального кислого протеина, а также повреждением ветвистости нейрофиламентов, что не противоречило литературным данным [59; 149].

Несмотря на то, что структура патологических сдвигов в обеих группах была схожей, максимальные проявления их были зафиксированы в разные сроки: наибольшая выраженность гистологических изменений у НУ крыс отмечалась на 14-е сутки, а у ВУ на 21-е. При этом интенсивность нарушений у неустойчивых к гипоксии особей была статистически значимо выше во все контрольные отрезки наблюдения. К окончанию эксперимента у ВУ крыс наблюдалось восстановление цитоархитектоники в гистологическом строении коры головного мозга, а неврологическая картина соответствовала таковой у контрольных животных. У крыс с низкой степенью устойчивости к гипоксии стойкие патогистологические сдвиги, характеризующиеся умеренными и тяжелыми дистрофическими повреждениями нейронов с нарушением стратификации, а также выраженными изменениями в микроциркуляторном сосудистом русле, сохранялись вплоть до 35-х суток эксперимента с выявлением на этом фоне отдельных очаговых неврологических нарушений (мышечная гипо- или гипертония, выпадение отдельных рефлексов и пр.).

Адекватное функционирование нейронной сети мозга невозможно без нормальной деятельности астроглиальной стромы, основным белком которой является глиальный фибриллярный кислый протеин GFAP. Этот высокоспецифичный для ЦНС белок высвобождается во внеклеточное пространство при нарушении целостности глиальных клеток, а потому перспективы его использования в качестве биомаркера повреждения мозга и предиктора исходов широко обсуждаются в научной литературе [72; 144; 160]. Главным недостатком, лимитирующим широкое использование GFAP в клинике в качестве биохимического маркера, является его дорогостоящее и трудоемкое определение в биологических средах (сыворотке крови, спинно-мозговой жидкости). Наиболее часто определение этого маркера используется при черепно-мозговых травмах [144; 160], однако доказано, что повреждение мозга любого генеза сопровождается пиковым увеличением содержания GFAP в сыворотке крови в первые часы после катастрофы [434].

Особенно значима роль глиального кислого протеина в восстановительных процессах после повреждения ЦНС: GFAP влияет, в частности, на формирование глиальных рубцов, стимулирует васкуляризацию белого вещества посредством индуктивного воздействия астроцитов на эндотелиальные клетки [72]. Показано, что для мышей нокаутных по GFAP характерны множественные дегенеративные процессы, в т.ч. аномальная миелинизация, изменение строения белого вещества и структурно-функциональное нарушение гематоэнцефалического барьера [258].

В наших исследованиях мы использовали иммуногистохимический метод определения экспрессии GFAP для верификации особенностей патогистологических нарушений у животных с разной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановительного периода.

Были выявлены существенные различия в экспрессии маркера повреждения в коре головного мозга, зависящие от резистентности к гипоксии. У животных с высокой устойчивостью к гипоксии с первых же суток постреанимационного периода наблюдалось постепенное усиление экспрессии глиального кислого протеина и нарастание количества GFAP⁺-астроцитов с параллельным увеличением средней площади их тел вследствие гипертрофии цитоплазмы, экспрессирующей белок, а также удлинением отростков. Эти регенераторные изменения достигали максимума к 14-м суткам и, в целом, носили адаптивный характер, отграничивая зону некроза и аутоиммунного воспалительного процесса [362; 396]. В то же время глиальные рубцы препятствуют регенерации аксонов, тем самым нарушая функционирование нейрональных связей [124]. Повышенная экспрессия GFAP у ВУ животных сохранялась до окончания периода наблюдения, однако сопровождалась некоторым снижением клеточной плотности, возможно, в результате апоптоза глиальных клеток в условиях энергодефицита и избытка свободных радикалов, глутамата и кальция [259].

У животных с низкой устойчивостью к гипоксии на всем протяжении постгипоксического периода отмечалось снижение плотности GFAP-позитивных клеток с укорочением длины отростков и уменьшением площади тел астроци-

тов. Межгрупповые различия были статистически значимы по всем исследованным показателям почти во все контрольные сроки наблюдения.

Таким образом, результаты наших исследований не противоречат описанному в литературе [72; 434]. Большие структурные повреждения и сопутствующие им неврологические нарушения сопровождаются более значительным снижением экспрессии глиального кислого фибриллярного протеина.

Интересные результаты были получены при исследовании поведения животных в тестах «открытое поле» (ОП) и «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). Статистически значимые различия в поведенческих реакциях устойчивых и неустойчивых к гипоксии крыс в ОП были отмечены уже в контрольных группах: НУ особи были более подвижны и тревожны, с высокой ориентировочно-исследовательской активностью (готовность к реализации реакции «борьба-бегство»), ВУ показывали те же характеристики с противоположным знаком («пассивное» восприятие неблагоприятного воздействия). Большая тревожность контрольных низкоустойчивых животных была зафиксирована также в тесте ПКЛ.

В первые сутки в ОП основным проявлением поведенческих нарушений стало резкое снижение двигательной активности в обеих группах. И если для ВУ животных такое поведение является целесообразным и соответствует сути толерантной стратегии адаптации, то для НУ животных, для которых высокая подвижность является важной составляющей их приспособления к патогенному действию среды, эти сдвиги свидетельствуют о невозможности реализации резистентной стратегии, основанной на активном противодействии этим факторам. Другими словами при непреодолимости неблагоприятных условий включается программа реализации энергетически более выгодной толерантной стратегии независимо от детерминированности типа адаптационного поведения [78].

Корреляционный анализ нейроэтологических показателей и активности свободнорадикальных процессов в головном мозге в этот период выявил наличие значимой отрицательной корреляции между количеством горизонтальных локомоций и уровнем липопероксидации у высокоустойчивых к гипоксии крыс

($r = -0,68$, $p = 0,038$) и количеством горизонтальных локомоций и содержанием карбонилированных белков у низкоустойчивых ($r = -0,81$, $p = 0,026$). Таким образом, более выраженные нарушения двигательной активности в группе НУ животных сопряжены с большими проявлениями окислительного стресса в ЦНС.

Невозможность быстрого и точного решения поведенческих задач в раннем постреанимационном периоде, наиболее демонстративно проявившаяся у НУ животных в тесте ПКЛ в виде нарушения реакции на новизну (время пребывания в открытых, не комфортных для животных рукавах у ВУ крыс увеличилось до 35% (в контроле 9%), а у НУ до 56% (в контроле 2%) от общего времени сеанса), может быть связана с повреждением нейронов «новизны», представленных во фронтальной зоны коры больших полушарий, образованиях гипоталамуса, таламуса, миндалины [61].

Сильная заторможенность, характерная для первых суток постреанимационного периода, к третьим суткам сменялась значительным оживлением исследовательской деятельности и двигательной активности в тесте ОП, особенно у НУ животных. И если высокий уровень двигательной активности у неустойчивых к гипоксии крыс, сохранявшийся в течение почти всего периода наблюдения, свидетельствует о восстановлении готовности к реализации резистентной стратегии адаптации [142], то значительный рост ориентировочно-исследовательской деятельности у ВУ крыс, на первый взгляд, противоречит сути толерантной («пассивное» восприятие) стратегии адаптации [76]. Однако нужно принять во внимание, что параллельно с увеличением двигательной активности менялась эмоциональная компонента поведения: у ВУ крыс значимо рос интегральный показатель эмоциональной тревожности (у НУ показатель ЭТ был значимо ниже контрольных значений весь период наблюдения), что способствует лучшей мобилизации ресурсов [119; 142].

Нейрофизиологической основой расстройств эмоциональной составляющей поведения животных, по мнению корифея отечественной патофизиологии Крыжановского Г.Н. [73], является формирование нейронных сетей с признаками патологической активности. Значительную роль в этом процессе может иг-

рять обусловленная активацией свободнорадикальных реакций биотрансформация синаптических структур, богатых фосфолипидами и концентрирующих значительное количество ненасыщенных жирных кислот [46].

Нами были выявлены корреляционные взаимосвязи между активностью свободнорадикального окисления и поведенческими реакциями, характеризующими уровень тревожности. У крыс с высокой устойчивостью к гипоксии положительные корреляционные связи между содержанием ТБК-рп в мозге и интегральным показателем эмоциональной тревожности выявлялись, начиная с третьих суток, затем, постепенно усиливаясь, к пятым суткам приобретали характер статистической значимости ($r=0,60$, $p=0,045$), которая сохранялась до конца третьей недели наблюдения: на 7-е сутки коэффициент Пирсона r составлял $0,64$ ($p=0,034$), на 14-е $r=0,79$ ($p=0,022$), на 21-е $r=0,84$ ($p=0,02$). К концу эксперимента показатель ЭТ на фоне сохраняющегося высокого уровня ПОЛ начал снижаться: $r= -0,55$ ($p=0,044$).

У крыс с низкой устойчивостью к гипоксии подавление эмоциональной компоненты поведенческих реакций после перенесенной системной ишемии-реперфузии было сопряжено с активацией карбонильного стресса в ЦНС. Статистически значимые корреляционные взаимосвязи были выявлены на третьи сутки между уровнем ЭТ и битирозина ($r= -0,76$, $p=0,026$), на 5-е между ЭТ и содержанием карбонилированных белков ($r= -0,80$, $p=0,019$), на седьмые между ЭТ и концентрацией КБ ($r=0,73$, $p=0,031$) и КБ-МКО ($r=0,71$, $p=0,04$).

Таким образом, выявленные нами разнонаправленные изменения нейроэтологических показателей, характеризующих эмоциональную компоненту поведенческих реакций, связаны корреляционными взаимоотношениями с проявлениями окислительного стресса в ЦНС крыс, перенесших остановку системного кровообращения, и зависят от устойчивости к гипоксии. Возможный механизм повышения тревожности у ВУ животных (по данным литературы) может быть обусловлен активацией липопероксидации и модификацией синаптических структур, а подавление тревожности у НУ крыс может быть связано с десенситизацией синапсов вследствие усиления ОМБ.

Установлено, что рост эмоциональной тревожности, сопряженный с увеличением содержания циркулирующего кортикостерона, является отражением адаптивной реакции на стресс [119; 142]. Это заключение логически вытекает из известного положения о том, что глюкокортикоиды могут усиливать выработку экстрагипоталамического кортиколиберина, являющегося основным медиатором тревожности [226]. К настоящему времени установлено, что ген, кодирующий нейrogормон кортиколиберин, является одной из мишеней транскрипционного фактора ГР [27].

Однако в наших исследованиях мы не выявили однозначной взаимосвязи между уровнями циркулирующего кортикостерона и тревожности [22]. Так, к концу первых суток после остановки кровообращения на фоне максимального роста кортикостерона у ВУ крыс (до 142% от исходных данных, $p \leq 0,05$), в тесте ОП наблюдались минимальные показатели ЭТ. В группе НУ животных наивысшие значения кортикостерона определялись на 3-и сутки (168%, $p \leq 0,05$), а интегральный показатель ЭТ был близок к минимальному (50%, $p \leq 0,05$). Коэффициенты корреляции в эти периоды не были статистически значимы. В период 14-21-е сутки у ВУ крыс эмоциональная тревожность была наиболее высокой, а уровень кортикостерона низким, тогда как при таком же примерно уровне стресс-гормона у НУ животных ЭТ была ниже исходной. В этих случаях корреляционная связь была статистически значимой.

С одной стороны такая неоднозначная корреляционная зависимость может быть обусловлена особенностью экспериментальной модели, при которой динамика уровня кортикостерона имеет резко выраженный нелинейный характер. С другой стороны, поскольку реализация эффектов кортикостерона осуществляется через кортикостероидные рецепторы, естественно было бы предположить, что указанные особенности поведенческих реакций связаны также с экспрессией центральных кортикостероидных рецепторов. Именно вовлечение в действие гормонов двух родственных типов кортикостероидных рецепторов значительно усложняет кажущуюся простой логическую связь между повышенным уровнем глюкокортикоидов и развитием тревожно-депрессивного состоя-

ния. Это тем более интересно, что в последнее время все больше появляется публикаций, связывающих развитие депрессии у больных с нарушением экспрессии ГР [168].

Связь между высоким уровнем глюкокортикоидов в крови и развитием тревожно-депрессивных состояний была замечена уже давно. В частности, одним из побочных эффектов повышенного уровня глюкокортикоидов у пациентов с синдромом Кушинга является развитие эпизодов депрессии [148;168], а блокаторы синтеза глюкокортикоидов даже пропагандировались в качестве эффективных антидепрессантов [295]. Однако участие в реализации эффектов глюкокортикоидных гормонов минерало- и глюкокортикоидных рецепторов может приводить иногда к прямо противоположным результатам. Например, обнаружено, что глюкокортикоиды, с одной стороны подавляют нейрогенез в гиппокампе [204] и непосредственно участвуют в развитии депрессии [267], а с другой – могут проявлять и нейротрофическую активность в этой области мозга [270].

В наших исследованиях у ВУ крыс была выявлена нарастающая отрицательная корреляционная зависимость между содержанием ГР гиппокампа и уровнем эмоциональной тревожности, которая в период 14-21-е сутки приобрела характер статистической значимости (коэффициент корреляции Спирмена $R = -0,73, -0,75$). Эти результаты согласуются с литературными данными, приведенными в обзоре [168]: у трансгенных мышей, лишенных ГР в гиппокампе наблюдались выраженные симптомы депрессивно-подобного состояния, а повышение экспрессии рецепторов снижало эти проявления и усиливало негативную отрицательную связь в регуляции ГГАС.

У НУ животных подобной четкой зависимости выявлено не было. Такая неоднозначность связана, вероятнее всего, с уровнем экспрессии минералокортикостероидных рецепторов. МР, обладающие высоким сродством к кортикостероидам и не играющие самостоятельной роли в стресс-реактивности, способствуют функциональности ГР, в основном, путем максимального связывания глюкокортикоидов [409]. При этом экспрессия МР имеет прямые защитные эф-

фекты на нейронном уровне; гиперэкспрессия МР снижает гибель нейронов после транзиторной церебральной глобальной ишемии. Считается, что в процессах устойчивости нейронов мозга к критическим воздействиям особое значение имеет соотношение экспрессии МР и ГР: именно преобладание активности МР играет нейропротекторную роль [269]. Показано, что активация МР препятствует возможному повреждающему действию ГР в процессе нейронального переживания, а также усиливает экспрессию антиапоптотических белков Bcl-2, Bcl-xL, нейротрофических факторов [136; 401].

В наших исследованиях у НУ крыс уровень МР на всем протяжении эксперимента был снижен: в 1-, 3-, 14-, 21-е сутки статистически значимо, а соотношение МР/ГР в основном было в пользу последних. У высокоустойчивых животных концентрация МР не опускалась статистически значимо ниже контрольных значений, при этом нарушение соотношения двух типов кортикостероидных рецепторов было либо несущественным (1-3-и сутки), либо значительно преобладала концентрация минералокортикоидных рецепторов (5-35-е сутки).

Таким образом, снижение вследствие развития окислительного стресса уровня МР, прежде всего, и лишь затем изменение содержания ГР являются факторами, влияющими на характер поведенческих реакций в динамике восстановительного периода после гипоксического повреждения. Другими словами, МР поддерживает функциональность ГР, и это позволяет более полно проявиться адаптивным эффектам гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы в поведенческой сфере.

Безусловно, роль центральных глюкокортикоидных рецепторов не ограничивается участием в регуляции поведенческих паттернов. Они занимают важнейшее место в адаптивных процессах регуляции активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Кортикостероидным рецепторам, имеющим разную чувствительность к изменению уровня глюкокортикоидов крови, отводится центральная роль в регуляции механизмов обратной связи [136; 227]. Связывание ГКГ с минералокортикоидными рецепторами гиппокампа поддерживает возбуждение нейронов CA1 поля гиппокампа и обеспечивает эфферентную

импульсацию из гиппокампа. В отличие от этого, связывание глюкокортикоидных рецепторов гиппокампа в условиях повышенной концентрации ГКГ, например, во время стрессорных воздействий, подавляет эфферентную импульсацию CA1 поля гиппокампа. В результате именно МР способны устанавливать порог активации оси гипоталамус-гипофиз-надпочечники. Точные механизмы такого влияния не известны, однако предполагается важная роль в указанных механизмах тонического возбуждения гиппокампальными нейронами ГАМК-ергических влияний паравентрикулярных ядер гипоталамуса [152].

Вполне закономерным представляется также причастность кортикостероидных рецепторов, широко представленных в различных структурах мозга, к глюкокортикоидной регуляции СРО в ЦНС. Роль глюкокортикоидных гормонов в условиях окислительного стресса чрезвычайно разнообразна, в частности, она заключается в регуляции равновесия между активностью про- и антиоксидантных систем, нарушения которого чреваты неконтролируемым усилением свободнорадикальных процессов. ГКГ влияют на активность ферментов антиоксидантной защиты (СОД, каталаза, глутатионпероксидаза) [239; 250; 312; 361], прооксидантов [339], на внутриклеточную продукцию АФК [221], на регуляцию ряда факторов транскрипции и сигнальных путей: HIF-1 α (гипоксия-индуцированный фактор транскрипции -1) [242], NF- κ B, JNK/c-Jun сигнализации в головном мозге крыс [213].

Наши исследования показали, что сильнейший стресс, вызванный остановкой кровообращения длительностью 5 мин и последующей реанимацией, повлек за собой дисфункцию ГГАС в обеих группах животных, однако дизрегуляция механизмов обратной связи, подтвержденная результатами корреляционного анализа, отмечалась только у НУ крыс в 1-е сутки и в конце второй недели наблюдения, что совпадает по срокам со второй волной эндотоксемии, характерной для этого состояния [109]. Масштабные метаболические изменения, вызванные тяжелым энергодефицитом, прежде всего в головном мозге, привели к срыву адаптационных механизмов и развитию дизрегуляторной патологии,

что функционально проявилось повторяющимся сбоем отрицательной обратной связи [43].

Обращает на себя внимание то, что дизрегуляция механизмов обратной связи в группе НУ крыс происходит на фоне резкого снижения уровня МР в гиппокампе до минимальных зафиксированных нами значений. В качестве дополнительного дестабилизирующего фактора, который наиболее отчетливо проявляется в первый контрольный отрезок наблюдения, выступает значительное превалирование содержания ГР над МР в этой области мозга при тенденции к его снижению в целом.

Следовательно, проводя параллели с поведенческими паттернами, снижение вследствие гипоксического и свободнорадикального повреждения уровня МР, в первую очередь, и лишь вслед за этим избыточная экспрессия ГР являются факторами дезадаптации, влияющими на течение постреанимационного периода.

С помощью корреляционного анализа мы изучили взаимоотношения между интенсивностью СРО и содержанием кортикостероидных рецепторов в гиппокампе животных с разной устойчивостью к гипоксии. Так, в динамике постреанимационного периода мы не обнаружили значимых корреляционных связей между ПОЛ и содержанием рецепторов ни в одной из экспериментальных групп. Однако на уровень КС рецепторов, как оказалось, повлияла окислительная модификация белков, причем эти влияния распространялись преимущественно на животных с низкой устойчивостью к гипоксии, что не удивительно, если принять во внимание высокую активность ОМБ в мозге НУ крыс. Статистический анализ подтвердил наличие значимых отрицательных корреляций между динамикой показателей ОМБ и содержания ГР и МР в этой группе животных, причем они усиливались в динамике: 1-е сутки КБ и ГР ($R = -0,57$), 3-и сутки БТ и МР ($R = -0,61$), 14-е сутки КБ и ГР ($R = -0,75$), БТ и МР ($R = -0,81$), 21-е сутки КБ и ГР ($R = -0,8$).

Руководствуясь обозначенной выше логикой, можно полагать, что менее выраженная дисфункция ГГАС у ВУ животных обусловлена относительно низ-

кой степенью десенситизации и редукции кортикостероидных рецепторов, о которой говорилось выше, вследствие меньшей интенсивности свободнорадикальных процессов. У ВУ крыс гормональный дисбаланс проявился значительным увеличением образования кортикотропина, отмечавшимся во все контрольные отрезки времени, и снижением или тенденцией к снижению концентрации (3-35 сутки) плазменного кортикостерона. Возможный механизм связан с повышенным расходом гормона в условиях гиперметаболизма, обусловленного окислительным стрессом и существенным усилением липопероксидации, а также с ускорением его метаболизма в печени [57; 58]. Динамика содержания альдостерона была аналогичной кортикостерону.

Гиперкортикоидное состояние, характерное для раннего постреанимационного периода, у НУ крыс было более выраженным и продолжительным (трое суток). Значительный подъем уровня кортикостероидных гормонов является показателем масштабности метаболических нарушений, при котором нейроэндокринная система функционирует на пределе своих возможностей [57]. Гиппокамп, богатый ГР, является значимой мишенью для кортикостероидов в головном мозге: высокие концентрации глюкокортикоидов токсически действуют на него, оккупируя все рецепторы [388]. Кортикостероиды способны оказывать повреждающее действие на мозг, взаимодействуя с липидными компонентами митохондриальных мембран, ингибируя тканевое дыхание и разобщая окисление и фосфорилирование [397]. Как результат подобного воздействия у крыс обнаружено уменьшение количества концевых ветвлений и длины дендритов, что приводит к их атрофии у пирамидных нейронов и даже гибели нейронов областей СА3 и СА4 [148].

Также более выраженным у НУ крыс было и гипокортикоидное состояние, сформировавшееся после ишемии-реперфузии, возможно, вследствие истощения надпочечников, вызванного масштабным их образованием на предыдущем этапе. При гипокортикоидном состоянии редукция и десенситизация рецепторов также имеют негативные последствия, нарушая адаптивную кортикостероидную регуляцию свободнорадикальных процессов. На этом фоне

высокие показатели альдостерона играют негативную роль, увеличивая задержку воды в организме и усугубляя нарушения водно-солевого баланса.

Таким образом, несмотря на то, что стрессовая трансформация функции ГГАС является обязательным условием формирования и развития адаптивных процессов, высокая интенсивность воздействия стрессора способна вызвать дисфункцию ГГАС и развитие дезадаптивных последствий в виде системных осложнений и метаболических сдвигов, одним из которых является оксидативный стресс. На проявления оксидативного стресса оказывает влияние исходная активность кислородного метаболизма, т.е. резистентность к гипоксии.

У животных с низкой чувствительностью к гипоксии отмечалась хорошая устойчивость белков ЦНС к свободнорадикальному окислению на фоне высокого уровня липопероксидации. При этом были выявлены статистически значимые отрицательные корреляционные взаимосвязи между усилением ПОЛ у ВУ крыс и уровнем кортикостерона во все контрольные сроки, кроме 1-х и 21-х суток, при отсутствии глюкокортикоид-зависимого подавления активности как ферментативного, так и неферментативного звена антиоксидантной защиты мозга. Указанные результаты свидетельствуют о сохранении, в целом, глюкокортикоидного контроля над свободнорадикальными процессами, протекающими в мозге [37].

У низкоустойчивых животных усиление ПОЛ отмечалось только в первые 7 суток наблюдения, а значимая корреляционная зависимость между активностью ПОЛ и уровнем кортикостерона обнаруживалась только на 3-и сутки ($r=0,65$, $p=0,024$). В этот же период (3-и сутки) отмечалось подавление активности каталазы, коррелирующее с уровнем кортикостерона ($r= -0,59$, $p=0,031$). В остальные сроки уровень ПОЛ был сопоставим с контрольным.

Напротив, уровень окислительной модификации белков у крыс с низкой устойчивостью к гипоксии весь период наблюдения был выше контрольного. В отличие от ВУ крыс у НУ имели место статистически значимые корреляционные связи между плазменной концентрацией кортикостерона и показателями ОМБ во все периоды наблюдения, кроме 1-х и 14-х суток. Именно в эти отрезки

постреанимационного периода отмечалась выраженная дестабилизация ГГАС с повторными нарушениями регуляции механизмов обратной связи, что позволяет сделать вывод об утрате в эти сроки глюкокортикоидного контроля над свободнорадикальными процессами в мозге.

Животные этой группы уже в контроле отличались относительно более высоким уровнем показателей, характеризующих устойчивость белков к окислению (КБ-МКО и РАП), что свидетельствует об изначально относительно высоком антиоксидантном потенциале тканей, обеспечивающем стабилизацию интенсивности ОМБ в ЦНС. Таким образом, исходно более высокая интенсивность кислородного метаболизма обуславливает большую интенсивность ОМБ в условиях постгипоксической адаптации, что компенсируется относительно высоким антиоксидантным резервом ткани.

При анализе механизмов усиления процессов СРО в ЦНС следует принять во внимание ряд особенностей строения и функции мозга [46; 153; 402]:

- большая скорость процессов аэробного окисления и, соответственно, высокая потребность в кислороде (20% от кислородного бюджета организма);
- структурные компоненты ЦНС обладают уникальным липидным составом с высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот и большой концентрацией ионов металлов переменной валентности;
- низкая активность каталазы и глутатионпероксидазы, неравномерное распределение СОД в различных отделах мозга, невысокий уровень восстановленного глутатиона и витамина Е;
- высокая антиоксидантная активность астроцитов, содержащих большее количество (по сравнению с нейронами) восстановленного глутатиона;
- высокая скорость метаболизма биогенных аминов, сопряженная с образованием АФК.

Кроме того, показано, что в головном мозге крыс резистентных к гипоксии кинетические параметры ферментов III и IV комплексов дыхательной цепи выше, чем у нерезистентных. Другими словами, фермент НАДН-цитохром С-оксиредуктаза в мозге крыс неустойчивых к гипоксии быстрее насыщается суб-

стратом (НАДН) и медленнее его окисляет, следствием чего является исходно более низкая активность НАДН-оксидазного пути окисления субстратов в мозге этих животных [88].

Высокая устойчивость к гипоксии считается одним из ключевых признаков доминирования толерантной адаптационной стратегии [174], для которой характерно резкое снижение потребности тканей в кислороде, и как следствие, повышение устойчивости к острой гипоксической гипоксии. Следовательно, основной причиной ограничения ОМБ в головном мозге у ВУ животных вполне может быть адаптивное ограничение кислород-зависимых процессов. Есть данные, что ряд продуктов, образованных при липидной перексидации, при взаимодействии с белками могут изменять их структуру и функционирование. Подобные комплексы, обладая антиоксидантной активностью, могут включаться в регуляцию свободнорадикальных процессов ЦНС по механизму отрицательной обратной связи и поддерживать реципрокность содержания продуктов липоперексидации и окислительной модификации белков [46].

Таким образом, анализ собственных и литературных данных по данной проблеме позволяет заключить следующее:

- В формировании различной поведенческой реакции на экстремальную гипоксию у животных с разным фенотипом устойчивости к гипоксии вносят вклад глюко- и минералокортикоидные рецепторы гиппокампа. Более высокая тревожность ВУ крыс сопровождается снижением экспрессии ГР на фоне относительно высокой активности МР.
- В дисфункции гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы и нарушении механизмов обратной связи принимают участие кортикостероидные рецепторы гиппокампа, на функциональность которых влияет интенсивность карбонильного стресса.
- Исходная интенсивность кислородного метаболизма оказывает влияние на проявления окислительного стресса в ЦНС в постреанимационном периоде: у ВУ к гипоксии животных свободнорадикальной деструкции подвергаются в большей степени липиды, а у НУ – белки.

**Особенности реализации защитно-компенсаторного ответа
в постреанимационном периоде в тканях в зависимости от исходной
устойчивости к гипоксии**

В главном фокусе большинства работ, посвященных изучению устойчивости животных к циркуляторной гипоксии, находятся структурные и метаболические изменения в различных отделах мозга, возникающие непосредственно после гипоксического воздействия, и не уделяется должное внимание чувствительности к гипоксии других органов-мишеней, недостаточно исследуются особенности восстановления их функций в отдаленные сроки после реанимации. В основе различий в ответной реакции организма на экстремальные воздействия лежат генетически детерминированные физиолого-биохимические реакции, имеющие в ряде случаев выраженную тканеспецифичность.

Нами были проведены комплексные исследования динамики формирования окислительного стресса у высоко- и низкоустойчивых к гипоксии животных в длительном постреанимационном периоде после остановки системного кровообращения.

Особенности реализации защитно-компенсаторного ответа в постреанимационном периоде в миокарде

В миокарде животных с различной исходной чувствительностью к гипоксии в постреанимационном периоде наблюдались существенные отличия в динамике колебаний ПОЛ: у ВУ животных интенсивность липопероксидации была выше, ее максимальная активность отмечалась на 1-е, 5-е, и 35-е сутки наблюдения. У НУ животных при меньшей, в целом, напряженности ПОЛ, его выраженное усиление фиксировалось на 21-е сутки эксперимента, а к 35-м суткам уровень ТБК-рп был сопоставим с контрольным.

Изменения ОМБ в ткани миокарда, напротив, не имели особенностей, зависящих от исходного типа кислородного метаболизма: в обеих экспериментальных группах наблюдался постепенный прирост ОМБ, и к концу исследования уровень карбонилированных белков значительно превышал контрольные значения у всех животных.

Более высокий уровень свободнорадикальных процессов в миокарде высокоустойчивых к гипоксии животных сопровождался и более высоким антиоксидантным статусом: анализ показателей ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты выявил повышенные протективные свойства миокарда у этих особей, как в контроле, так и в эксперименте.

Известно, что в поддержании баланса между прооксидантной и антиоксидантной системами и развитии адаптации или дезадаптации в виде патологического усиления оксидативного стресса важную роль играет глюкокортикоидная регуляция процессов СРО [4]. Особенности свободнорадикального окисления в тканях определяются не только динамикой секреции глюкокортикоидов, но и количеством и чувствительностью рецепторов органов-мишеней.

Сопоставляя динамику показателей содержания кортикостероидных рецепторов и антиоксидантной защиты ВУ к гипоксии крыс, мы выявили статистически значимые положительные корреляции между уровнем ГР и каталазы в 1-е сутки ($R = 0,62$), ГР и СОД на 3- и 7-е сутки ($R = 0,65; 0,76$), ГР и GSH на 5-е, 14-е и 21-е сутки ($R = 0,75; 0,78; 0,86$ соответственно). Значимые корреляции отмечались также между МР и GSH на 5-14-е сутки ($R = 0,69; 0,75; 0,79$). Приведенные примеры свидетельствуют о глюкокортикоид-зависимых изменениях антиоксидантной защиты.

В группе НУ к гипоксии животных статистически значимые корреляционные взаимосвязи были как положительными, так и отрицательными: 1-е сутки ГР/СОД ($R = -0,64$), 3-и сутки ГР/СОД ($R = 0,70$) и МР/СОД ($R = 0,66$), 5 сутки ГР/каталаза ($R = -0,75$), МР/СОД ($R = 0,88$), 7-е сутки ГР/GSH ($R = 0,71$), ГР/каталаза ($R = 0,72$), 14 сутки ГР/GSH ($R = 0,87$), МР/СОД ($R = 0,91$), 21 сутки МР/GSH ($R = 0,69$).

Анализ взаимоотношений между активностью СРО в миокарде и динамикой секреции глюкокортикоидов в постреанимационном периоде не выявил каких-либо существенных закономерностей в обеих группах животных. В то же время между уровнями кортикостерона и содержанием рецепторов выявлялись статистически значимые корреляции.

К концу первых 24 часов после критического воздействия у ВУ к гипоксии крыс наблюдался рост концентрации плазменного кортикостерона и уровня ГР (между показателями выявлялась значимая корреляционная связь $R = 0,78$, $p \leq 0,05$) и тенденция к повышению МР. В этот же контрольный отрезок у НУ животных рост глюкокортикоидов в крови не привел к увеличению уровня ни ГР ($R = -0,82$, $p \leq 0,05$), ни МР ($R = -0,79$, $p \leq 0,05$), что мы расценили как их десенситизацию. При этом снижение уровня рецепторов в миокарде значимо отрицательно коррелировало с содержанием КБ: ГР/КБ ($R = -0,78$), МР/КБ ($R = -0,73$).

Поскольку реализация эффектов глюкокортикоидных гормонов осуществляется через ГР и МР, логично предположить, что уровень экспрессии рецепторов отражает степень вовлечения гормонов в регуляцию метаболических процессов в миокарде, позволяющих противостоять вызовам внешней среды. Физиологические уровни глюкокортикоидов важны в гомеостатической регуляции сердца и сосудистой сети [206]. Известно, что глюкокортикоиды обладают пермиссивным влиянием на катехоламины, повышая чувствительность адренорецепторов к ним, усиливают сократительную способность миокарда левого желудочка, тем самым повышая его потребность в кислороде [77].

Десенситизация ГР и МР в раннем восстановительном периоде, возникшее в условиях тяжелого энергодефицита у животных с низкой устойчивостью к гипоксии, с одной стороны, может иметь целью адаптивный эффект, минимизируя избыточное влияние глюкокортикоидных гормонов на миокард, тем самым снижая потребность миокарда в кислороде и субстратах метаболизма. Это согласуется с концепцией В.И. Кулинского и И.А. Ольховского, декларирующей в условиях непреодолимости действия патогенного фактора доминирование более рациональной толерантной стратегии, требующей меньших энергозатрат [78; 108; 176]. С другой стороны, это является отражением процессов дезадаптации, поскольку глюкокортикоидная регуляция является необходимым условием для развития адаптивных изменений [220].

Благотворное влияние глюкокортикоидов при действии ишемии-реперфузии объясняется в основном их способностью ограничивать острый воспалительный ответ: глюкокортикоиды действуют на лейкоциты и эндотелиальные клетки, ослабляя взаимодействия лейкоцитарно-эндотелиальных клеток и уменьшая образование и высвобождение провоспалительных цитокинов и медиаторов [260]. ГР подавляет активацию генов воспалительного ответа, ингибируя такие факторы транскрипции, как AP-1 (белок-активатор-1) и NF-κB (ядерный фактор-κB), с одной стороны, и увеличивая транскрипцию компонентов противовоспалительных генов, с другой стороны. Эта функция, называемая транспрессией, объясняет большинство противовоспалительных эффектов глюкокортикоидов [198; 412].

Кроме того, кардиозащитное действие глюкокортикоидов при ишемически-реперфузионном повреждении миокарда может быть связано с избирательным увеличением уровня экспрессии L-PGD-синтазы через ГР и активацией синтеза простагландинов с преобладанием PGD₂ в кардиомиоцитах [260]. При этом основной киназой, участвующей в кардиопротекции, опосредованной PGD₂, является ERK1/2 [437]. PGD₂ предотвращает агрегацию тромбоцитов, индуцирует эндотелиально-зависимую артериальную релаксацию, оказывает несколько противовоспалительных и антиоксидантных эффектов через механизм, опосредованный PPARγ [260].

Таким образом, кардиопротективный эффект глюкокортикоидов в остром периоде после ишемии-реперфузии не вызывает сомнений. Но поскольку уровни циркуляции гормонов снижаются через 24-48 часов после ишемического повреждения [265], они вряд ли будут оказывать свое защитное действие в более позднем периоде восстановления. Однако активные глюкокортикоиды также могут быть регенерированы локально из циркулирующих инертных 11-кето-метаболитов ферментом 11β-HSD1, который экспрессируется во многих клетках, в том числе в кардиомиоцитах, фибробластах и клетках гладкой мускулатуры в сердце [209; 257]. Анализ транскриптома показал, что 11β-HSD1 в фиб-

робластах миокарда содержится в 6 раз больше по сравнению с фибробластами других тканей [207].

Хотя экспрессия и активность клеточной 11 β -HSD1 в сердце обычно низкие, они могут быстро изменяться в ответ на внешние раздражители [209]. Экспрессии 11 β -HSD1 могут способствовать сами глюкокортикоидные гормоны [178], провоспалительные цитокины IL1 и TNF α , особенно в фибробластах [368].

В условиях нашего эксперимента у ВУ к гипоксии животных, начиная с 3-х суток, отмечалось снижение уровня кортикостерона, что должно было бы сопровождаться уменьшением содержания рецепторов. И действительно, в этой группе на 3-и сутки мы наблюдали значительное снижение уровня ГР и, особенно, МР, что отражает, в целом, физиологичность отношений «рецептор – лиганд». Однако начиная со следующего контрольного отрезка (5-е сутки) отмечался рост активности рецепторов, далее начинал отчетливо превалировать уровень глюкокортикоидных рецепторов, особенно явный на 14-е сутки эксперимента. Следует особо подчеркнуть, что содержание рецепторов, в большей степени ГР, оставалось выше контрольного уровня до самого окончания наблюдения при том, что концентрация плазменного кортикостерона была статистически значимо ниже контроля почти весь экспериментальный период.

Следуя вышеозначенной логике можно предполагать, что выявленное нами увеличение уровня ГР связано с усилением экспрессии 11 β -HSD1. Таким образом, в отсутствие стимуляции ГР миокарда плазменным кортикостероном, для осуществления адаптивных функций не исключается возможность активации рецепторов локально регенерированным глюкокортикоидом. Однако такого рода стимуляция, если она действует продолжительное время, может способствовать развитию ремоделирования желудочков, так как глюкокортикоиды, как эндо-, так и экзогенные, подавляют ангиогенез [209], кроме того показано, что 11 β -HSD1 в фибробластах регулирует высвобождение провоспалительных медиаторов [257]. Экспериментально доказано, что у мышей с дефицитом 11 β -

HSD1 через 8 недель после перенесенного острого инфаркта миокарда степень дилатации желудочков (ключевого прогностического критерия развития сердечной недостаточности у человека) и перегрузки малого круга кровообращения с развитием отека легких оказалась выражена меньше, чем у обычных животных [208]. К таким же результатам приводит фармакологическое ингибирование 11β -HSD1 [257].

Таким образом, в группе ВУ к гипоксии животных в постреанимационном периоде в миокарде наблюдается нарушение баланса содержания кортикостероидных рецепторов с преобладанием активности глюкокортикоидных, что, в целом, имеет адаптивный эффект. Однако отсутствие нормализации этого показателя к концу пяти недель наблюдения может способствовать формированию патологического ремоделирования миокарда.

В группе животных НУ к гипоксии на 3-и сутки постреанимационного периода на фоне высоких уровней кортикостерона и альдостерона отмечался минимальный уровень ГР и повышенный МР. В ситуации, когда имеет место активация МР, которые способствуют экспрессии воспалительных цитокинов в ответ на действие альдостерона и кортизола [330], несмотря на потенциальные возможности, функции кортикостерона не могут быть реализованы в полном объеме. В отсутствие 11β -HSD 2, которая превращает глюкокортикоид в неактивные метаболиты, альдостерон не может конкурировать с кортикостероном за связь с МР, поэтому представляется вероятным, что именно глюкокортикоид, а не минералокортикоид, оккупирует МР и влияет на провоспалительный ответ после действия ишемии [240]. Следовательно, кардиозащитное действие глюкокортикоидов может быть нивелировано провоспалительной МР-активацией в ответ на гипоксический стресс [412].

Однако в обычных условиях высокие уровни внутриклеточных эндогенных глюкокортикоидов, занимая минералокортикоидные рецепторы в кардиомиоцитах, не активируют их. Другими словами, оккупация МР в ткани миокарда не имитирует эффекты альдостерона [266]. Стимулом для активации комплекса глюкокортикоид-МР в сердечно-сосудистой системе могут стать нару-

шения редокс-равновесия и развитие окислительного стресса. Считается, что редокс-регуляция является важным фактором, определяющим активность транскрипционных факторов, включая рецепторы ядерных гормонов [254; 387]. Индукция МР активными метаболитами кислорода приводит к активации NADPH-оксидазы, стимулирует продукцию АФК и повреждение ткани, тем самым формируя порочный круг [348].

Кроме того, имеются данные, что в патологических условиях, включая гипоксию [212], экспрессия и активность 11 β -HSD2 (которого в сердце обычно мало, за исключением сосудистого эндотелия) увеличиваются, что позволяет альдостерону конкурировать за связь с МР [257].

Начиная с пятых суток постреанимационного периода в группе НУ к гипоксии животных уровень кортикостерона резко снижается при сохранении высокой плазменной концентрации альдостерона. Такая ситуация сохраняется вплоть до окончания эксперимента и позволяет проявиться эффектам альдостерона. К настоящему времени установлен целый ряд негативных эффектов альдостерона по отношению к сердечно-сосудистой системе, за физиологические эффекты которого отвечают минералокортикоидные рецепторы. Аномальная активация системы ренин-ангиотензин-альдостерон (РААС) прямо коррелирует с распространенностью и степенью повреждения органов-мишеней, в частности длительное увеличение концентрации альдостерона в плазме является одним из важнейших механизмов развития хронической сердечной недостаточности [266]. Повышенная МР-сигнализация в миокарде ассоциируется с развитием гипертрофии и фиброза, воспалением; влияя на электрическую функцию сердца посредством активации MR минералокортикоиды могут провоцировать развитие желудочковых аритмий [217; 316; 439].

Эффекты циркулирующего в крови альдостерона могут осуществляться и через мембранные МР, обеспечивая систему «быстрого реагирования» и кратковременный контроль за состоянием сердечно-сосудистого гомеостаза. Свободный альдостерон плазмы оказывает свое действие совместно с тканевой РААС [127]. Воздействие альдостерона на мембранные МР способствует активации

быстрых кальциевых каналов, транскрипции ДНК и увеличению экспрессии протеинкиназы C, натриевых, калиевых каналов, K^+/Na^+ -АТФазы и опосредует формирование и прогрессирование кардиоваскулярных осложнений [158].

Таким образом, в группе НУ к гипоксии животных в постреанимационном периоде в миокарде также наблюдается нарушение баланса кортикостероидных рецепторов. Усиленная МР-сигнализация в миокарде ассоциируется с развитием гипертрофии и фиброза, воспалением, нарушением электрической функции. Это является основанием для клинического применения селективных МР-блокаторов для терапии ишемического поражения миокарда и сердечной недостаточности.

Важно, что эффекты гена, кодирующего 11β -HSD1, не зависят от функции кардиомиоцитов, поэтому ингибиторы этого фермента, которые в настоящий момент проходят фазу клинических испытаний [208], могут иметь дополнительные преимущества у пациентов, уже получающих терапию антагонистом МР или альтернативу у пациентов, для которых гиперкалиемия исключает использование антагонистов МР [281].

Особенности реализации защитно-компенсаторного ответа в постреанимационном периоде в легких

В постреанимационном периоде выявлены отчетливые изменения в динамике интенсивности ПОЛ и ОМБ в ткани легких, зависящие от исходного типа кислородного метаболизма. Тенденция к разнонаправленным реакциям звеньев свободнорадикального окисления, описанная выше, проявилась и в ткани легких: у ВУ животных в ходе постреанимационного периода преобладали процессы липопероксидации, а у НУ животных – окислительной модификации белков при сохранении реципрокности динамики ПОЛ и ОМБ.

Большая активность процессов липопероксидации у животных с высокой устойчивостью к гипоксии сопровождалась большей сохранностью антиоксидантных механизмов. Наибольшую устойчивость проявила каталаза: в ходе всего эксперимента ее активность была повышенной (у НУ сниженной или сопоставимой с контролем), снижение уровней СОД и восстановленного глутатиона

было менее значительным, чем у НУ крыс.

Сопоставление содержания ГР и уровня КС в различных контрольных точках ВУ крыс показало, что далеко не всегда рецепторный ответ соответствовал величине гормонального стимула. Так, пиковая концентрация плазменного кортикостерона и альдостерона в первые сутки постреанимационного периода вызвала статистически значимый рост уровня глюкокортикоидных рецепторов и тенденцию к росту минералокортикоидных. Однако это не был максимальный уровень ГР. Наибольшие значения этого показателя отмечались в промежутке 14-35-е сутки (122-140%, $p < 0,05$), когда уровень кортикостерона был наименьшим (68-76% от исходных значений, $p < 0,05$). В промежутке 3-7-е сутки следовала адекватная реакция системы «гормон – рецептор». Из этого следует, что в 1-е сутки постреанимационного периода действовали механизмы, лимитирующие рост содержания ГР, обеспечивающего адаптивную реакцию на ишемию-реперфузию, а в более позднем периоде, напротив, усиливающие.

Такая относительная десенситизация, т.е. неадекватный стимулу рецепторный ответ в группе ВУ к гипоксии животных в первые сутки, препятствует полноценной реализации адаптивного стрессового ответа [220]. Эта ситуация может быть обусловлена кратковременным усилением ОМБ на фоне недостаточности антиоксидантной защиты. В этот отрезок времени выявляются статистически значимые отрицательные корреляции между уровнем ГР и битирозином ($R = -0,64$), ГР и кортикостероном ($R = -0,66$), битирозином и восстановленным глутатионом ($R = -0,77$), битирозином и СОД ($R = -0,71$).

В экспериментальных исследованиях, проведенных ранее, было установлено, что для течения постреанимационного периода характерны две волны эндотоксинемии с максимумами в 1-3-и и 10-14 сутки, причем вторая волна эндотоксикоза обусловлена развитием синдромов полиорганной недостаточности и системного воспалительного ответа [131; 173]. Однако тяжелые патоморфологические расстройства в ткани легких (респираторный дистресс-синдром) выявлялись и значительно позднее, вплоть до 35-х суток. В промежутке 14-35-е сутки вновь отмечались статистически значимые отрицательные корреляционные

зависимости между уровнями ГР и кортикостерона (14-е сутки $R = -0,75$, 21-е сутки $R = -0,78$, 35-е сутки $R = -0,81$). Достоверных корреляций между показателями ОМБ и содержанием ГР не выявлялось.

Усиление роста ГР в позднем восстановительном периоде 14-35-е сутки (что по времени совпадает со второй волной эндотоксинемии и развитием респираторного дистресс-синдрома) играет важную роль, модулируя течение воспалительного процесса [417]. Известно, что мономер ГР взаимодействует с провоспалительными факторами транскрипции (NF κ B и AP-1), чтобы опосредовать репрессию генов [276]. Гомодимеры ГР также обладают сильными противовоспалительными эффектами [343; 346], влияя на индукцию генов, кодирующих противовоспалительные белки, таких как MAPK-фосфатаза 1 [262] и GILZ [181]. Показано, что применение комбинации синтетического глюкокортикоида и гиалуроновой кислоты при остром эндотоксиновом поражении легких у крыс усиливает активность глюкокортикоидных рецепторов за счет ингибирования активации сигнального пути p-38MAPK [309].

Однако на фоне статистически значимого снижения концентрации кортикостерона повышение уровня ГР требует альтернативной стимуляции рецепторов. Возможным механизмом реализации такого воздействия представляется активация глюкокортикоид-конвертирующего фермента 11 β -HSD1 с локальным усилением синтеза кортикостерона в легких [305]. Наибольшая экспрессия фермента обнаруживается в альвеолярных клетках II типа, а сам фермент, по мнению авторов исследования, может считаться аутокринным усилителем глюкокортикоидного действия в легких [246], а местный синтез глюкокортикоидов может способствовать ограничению неконтролируемых иммунных реакций и повреждения тканей [305]. Индукция экспрессии фермента 11 β -HSD1 в легких может происходить под влиянием разнообразных антигенных стимулов [305], гипогликемии [283], физической нагрузки [279]. Механизм повышения экспрессии фермента 11 β -HSD1 связывают с активацией фактора транскрипции AP-1, связанного с MAPK-сигнализацией через пути ERK1/2 и JNK [407].

Динамика содержания минералокортикоидных рецепторов в ткани легких у животных устойчивых к гипоксии была адекватна динамике концентрации кортикостероидных рецепторов в течение всего постреанимационного периода. Таким образом, у ВУ животных в легких наблюдалось преобладание активности глюкокортикоидных рецепторов в течение всего эксперимента.

У животных с низкой устойчивостью к гипоксии, напротив, в ходе всего постреанимационного периода мы наблюдали смещение баланса рецепторов в сторону превалирования уровня МР. Эффект десенситизации рецепторов на фоне высокого уровня гормонов, наблюдаемый в большинстве исследованных органов, был более длительным (1-3-и сутки) и затронул, в основном, глюкокортикоидные рецепторы.

Одним из вероятных факторов, препятствующих реализации адаптивных противовоспалительных эффектов глюкокортикоидов через ГР-сигнализацию в периоде раннего эндотоксикоза, является высокий уровень ОМБ, сопровождающийся снижением резервно-адаптационного потенциала в легочной ткани. Таким образом, формируется порочный круг: ишемия-реперфузия – высокий уровень ОМБ – десенситизация глюкокортикоидных рецепторов – снижение адаптивной глюкокортикоидной регуляции в ткани легких – интенсификация окислительного стресса – высокий уровень ОМБ.

Десенситизация ГР к кортикостерону на фоне его высокой плазменной концентрации (1-3-и сутки) при сохранении чувствительности МР способствует росту их уровня. Повышенная концентрация МР, наблюдаемая в период статистически значимого снижения кортикостерона (5-35-е сутки), обусловлена стимуляцией рецепторов высоким содержанием в крови альдостерона. В обоих случаях будет наблюдаться усиление эффектов, реализуемых гормонами через МР-сигнализацию. Суммация ишемических и гемодинамических сдвигов, вызванных остановкой кровообращения и реанимацией, и осмотическая стимуляция ОЦК альдостероном усугубляют нарушения водно-электролитного баланса, способствуя развитию отека легких [154].

Повышение активности МР является неблагоприятным фактором, влияющим на течение восстановительных процессов после ишемии-реперфузии легких. Имеется множество доказательств того, что гипоксия является фактором риска для развития сосудистой патологии легких, сопровождающейся фиброзом [188; 327; 430]. Доказано, что альдостерон является активатором фактора роста фиброгенного белка соединительной ткани (CTGF) в сосудистых клетках *in vitro*, а гиперальдостеронизм коррелирует с неблагоприятным течением сосудистого ремоделирования при легочной артериальной гипертензии *in vivo*. Есть данные, что гипоксия увеличивает экспрессию стероидогенного регуляторного белка StAR в эндотелиальных клетках легочной артерии и стимулирует экстра-адrenalовый синтез альдостерона, что, в свою очередь, способствует сосудистому ремоделированию, включая фиброз [427]. В аномальную пролиферацию сосудов могут быть вовлечены различные сигнальные пути, такие как эпидермальный фактор роста, инсулиноподобный фактор роста и ангиотензин II, которые пересекаются с геномными и негеномными быстрыми эффектами МР [327]. МР-активация также способствует образованию АФК и развитию окислительного стресса, что, в свою очередь, стимулирует пролиферацию сосудистых клеток [190].

Таким образом, начиная с 5-х суток постреанимационного периода в группе НУ животных порочный круг трансформируется: ишемия-реперфузия – усиление ОМБ – десенситизация глюкокортикоидных рецепторов – снижение адаптивной глюкокортикоидной регуляции – неадекватное усиление минералокортикоидной регуляции – усиление окислительного стресса – формирование условий для развития отсроченных осложнений в виде сосудистого ремоделирования и фиброза.

Таким образом, общей тенденцией, характерной для неустойчивых к гипоксии животных, является значительный рост содержания МР в легких, прогрессивно нарастающий к окончанию периода наблюдения, и снижение активности ГР.

Особенности реализации защитно-компенсаторного ответа в постреанимационном периоде в почках

Ишемически-реперфузионное повреждение является основной причиной острой почечной недостаточности, которая наблюдается примерно у 15% госпитализированных пациентов [320]. Пациенты, пережившие эпизод почечной ишемии-реперфузии, имеют более высокий риск развития хронической почечной недостаточности в последующие годы [193]. Недавнее исследование показало, что 6,6% пациентов после острой ишемии-реперфузии, у которых было полное восстановление функции почек, имели больший риск смерти и развития ХПН в следующие месяцы [320].

Почка чрезвычайно чувствительна к нарушениям гемодинамики и ишемии, что делает ее одним из основных органов-мишеней для разворачивания свободнорадикальных процессов. Одним из факторов, объясняющих этот феномен, является огромная площадь липидных мембран за счет щеточных каемок эпителия почечных канальцев [175]. Важно также, что АОЗ (ферментативная и неферментативная) при усилении процессов пероксидации довольно быстро истощается, особенно у людей с генетически обусловленным снижением активности антиоксидантной системы (30%) [395]. Примечательно, что исследование устойчивости к гипоксии неинбредных крыс [137] выявило, что доля неустойчивых к гипоксии особей в популяции составляет также приблизительно 30%.

В наших исследованиях интенсивность пероксидации после перенесенного критического состояния зависела от базальных характеристик аэробного метаболизма. В динамике постреанимационного периода у ВУ к гипоксии крыс отчетливое усиление ПОЛ отмечалось на пятые сутки и в конце эксперимента (35-е сутки). Для НУ животных было характерно постепенное накопление ТБК-рп с достижением максимального уровня на поздних сроках.

Сравнительная оценка параметров окислительной модификации белка в гомогенате почек показала, что в группе НУ крыс уровень маркеров ОМБ (как карбонилированных белков, так и битирозина) превышал значения аналогичных показателей животных с высокой устойчивостью к гипоксии в течение всего

наблюдения. Причем для ВУ крыс, в отличие от НУ, была характерна нормализация этих показателей к концу эксперимента. Таким образом, на поздних сроках у ВУ животных усиливалась только липопероксидации, а у НУ сохранялись высокие уровни как ПОЛ, так и ОМБ.

Описанные изменения у НУ к гипоксии крыс происходили на фоне выраженного угнетения всех исследованных компонентов антиоксидантной защиты. Напротив, в группе ВУ животных антиоксидантная защита оказалась устойчивой: достаточно упомянуть о том, что каталазная активность усиливалась, уровень восстановленного глутатиона в первые трое суток стал достоверно выше исходного, а в последующие дни сопоставим с контрольными данными. Пострадала только активность СОД, которая, тем не менее, к концу эксперимента восстановилась.

Поскольку известно, что кортикостероидные гормоны через кортикостероидную сигнализацию участвуют в регуляции процессов СРО, мы проанализировали взаимовлияние уровня гормонов в плазме крови, содержания рецепторов и показателей СРО в гомогенатах почек.

В первые сутки постреанимационного периода в условиях стрессового роста плазменной концентрации кортикостерона и альдостерона не произошло ожидаемого скачка содержания рецепторов ни в одной из опытных групп.

У животных с высокой устойчивостью к гипоксии уровень ГР остался на контрольных цифрах, а МР показал тенденцию к снижению. Данная ситуация могла возникнуть в результате достоверной интенсификации ОМБ (как базальной, так и индуцированной, со снижением величины резервно-адаптационного потенциала), относительно компенсированной ростом активности каталазы и пула восстановленного глутатиона. Суммация этих эффектов не позволила реализовать адаптивные эффекты кортикостероидных гормонов в полной мере, но способствовала удержанию содержания рецепторов на контрольном уровне. В этот период отмечались статистически значимые отрицательные корреляции между концентрацией кортикостерона и содержанием ГР ($R = -0,58$), концентра-

цией альдостерона и содержанием МР ($R = -0,67$), что свидетельствует о нарушении кортикостероидной рецепции.

В период 3-7-е сутки рецепция восстанавливалась, становилась адекватной гормональной стимуляции, что сопровождалось однонаправленной динамикой содержания ГР и МР и гормонов. Однако, начиная с 14-х суток исследования, уровень ГР стал статистически значимо выше контрольного и продолжал расти вплоть до окончания сроков исследования. Концентрация кортикостерона при этом была достоверно ниже исходных показателей. Содержание МР было адекватно уровню альдостерона. Логично предположить, что в этих обстоятельствах происходила дополнительная стимуляция глюкокортикоидных рецепторов. Возможно, имела место недостаточная активность фермента 11HSD 2, осуществляющего конверсию активного кортикостерона в неактивный метаболит. В физиологических условиях активность этого важнейшего для почек фермента позволяет альдостерону конкурировать с кортикостероном за связь с МР.

В группе крыс с низкой устойчивостью к гипоксии в первые трое суток постреанимационного периода на фоне повышенной концентрации кортикостерона и альдостерона отмечалась десенситизация рецепторов, в большей степени ГР. Такое состояние может быть следствием более высокой, чем у ВУ крыс, интенсивности СРО (и ОМБ, и ПОЛ), угнетения антиоксидантной защиты. В этот период выявляются отрицательные корреляции между уровнем ГР и КБ (1 сутки $R = -0,72$, 3-и сутки $R = -0,75$), МР и КБ (1 сутки $R = -0,70$, 3-и сутки $R = -0,74$).

Начиная с пятых суток на фоне сохраняющейся высокой интенсивности пероксидации (как липидов, так и белков) в почках и постепенного оживления активности компонентов антиоксидантной защиты восстановилось сопряжение уровня рецепторов и плазменной концентрации гормонов, что подтверждается результатами корреляционного анализа. Высокому уровню альдостерона соответствовало высокое содержание МР, а низкой концентрации кортикостерона – сниженное содержание ГР. Такая ситуация сохранялась до самого конца эксперимента.

Таким образом, у животных с высокой устойчивостью гипоксии кратковременный период относительной десенситизации рецепторов приходился на первые сутки и был сопряжен с интенсивностью свободнорадикальных процессов. Большая часть постреанимационного периода (начиная с пятых суток) проходила при повышенной активности глюкокортикоидных и сниженной активности минералокортикоидных рецепторов.

У животных с низкой устойчивостью к гипоксии состояние десенситизации рецепторов длилось до окончания третьих суток, так же, как и в оппозитной группе, было сопряжено с высокой активностью свободнорадикального окисления и недостаточностью систем антиоксидантной защиты в почках. Значительное превалирование содержания МР со статистически значимым превышением контрольных показателей при репрессии ГР отмечалось в ходе большей части постреанимационного периода.

Показано, что альдостерон через МР-сигнализацию играет ключевую роль в патогенезе ишемически-реперфузионных повреждений почек, проявляющихся в развитии прогрессирующей почечной дисфункции, протеинурии, гломерулосклероза, тубулоинтерстициального фиброза и т.д. [287]. Важно отметить, активация МР альдостероном сама по себе недостаточна для реализации его отрицательных эффектов, для этого требуется определенная патологическая среда. Такая среда может возникнуть в условиях усиления окислительного стресса [336].

Альдостерон дозозависимо через МР-индуцированное увеличение образования митохондриями АФК стимулирует образование цитозольных белков NLRP3, ASC, вовлеченных в активацию каспаз 1 и 5, провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-18, и вызывает повреждение тубулярного эпителия [333]. Комплекс альдостерон-МР в условиях окислительного стресса и стресса эндоплазматического ретикулума повреждает гломерулярные подоциты, вызывая нарушение клубочкового фильтра и протеинурию [442].

Блокада минералокортикоидных рецепторов спиронолактоном до или даже после ишемии предотвращает острое функциональное и структурное повре-

ждение, вызванное ишемией-реперфузией [320; 410]. Минералокортикоидная рецепторная блокада снижает окислительный стресс у реципиентов при почечной трансплантации [328]. У крыс финеренон – новый нестероидный антагонист МР – способен предотвратить острое повреждение почек, вызванное ишемией-реперфузией, и прогрессирующее ухудшение функции и структуры почек [347].

Активация ГР ослабляет передачу сигналов пути PI3K/АКТ, являющегося важнейшим для регулирования адаптивного иммунного ответа [366], что подавляет воспалительную инфильтрацию. Показано, что введение мышам дексаметазона перед эпизодом ишемии обеспечивает защиту от ишемически-реперфузионного повреждения, что проявляется в улучшении функции почек и снижении интенсивности патоморфологических нарушений [185]. Дексаметазон повышает активность противоапоптотического белка Bcl-xL, подавляет индуцированный ишемией апоптотический белок Bax, ингибирует активацию каспазы-9 и каспазы-3 и снижает апоптоз и некроз эпителия проксимальных канальцев почек [233].

В эксперименте было показано, что дексаметазон уменьшает продукцию и высвобождение провоспалительных цитокинов (TNF- α и IL-6) путем ингибирования сигнальных путей NF- κ B, подавляет образование активных форм азота и кислорода и повышает активность супероксиддисмутазы [357].

Таким образом, анализ собственных и литературных данных позволяет сделать заключение о том, что на формирование различных вариантов защитно-компенсаторного ответа почек в постреанимационном периоде, зависящих от исходной чувствительности к гипоксии, оказывают влияние интенсивность окислительного стресса и вовлеченность в регуляторные механизмы кортико-стероидных рецепторов. Повышенный уровень глюкокортикоидной сигнализации на фоне относительного снижения минералокортикоидной у высокоустойчивых к гипоксии животных играет адаптивную роль, снижая иммунный ответ, воспалительную инфильтрацию, уменьшая активность апоптоза и некроза, интенсивность патоморфологических нарушений.

Снижение глюкокортикоидной сигнализации и повышение минералокортикоидной на фоне высоких уровней альдостерона и значительной интенсивности окислительного стресса делает почку уязвимой к действию факторов ремоделирования и фиброза, ухудшая долгосрочный прогноз.

Особенности реализации защитно-компенсаторного ответа в постреанимационном периоде в печени

В печени животных в восстановительном периоде после перенесенного критического состояния имелись существенные различия в динамике липопероксидации и окислительной модификации белков, которые зависели от устойчивости к гипоксии: у высокоустойчивых к гипоксии крыс отмечалось усиление ПОЛ на всем протяжении эксперимента, а у низкоустойчивых – выраженное снижение его интенсивности. При этом динамика ОМБ имела обратную направленность: выраженный карбонильный стресс у НУ крыс наблюдался в ходе всего постреанимационного периода, в то время как у ВУ статистически значимых изменений ОМБ на базальном уровне не было выявлено вообще, а при индукции только в сроки 3-14-е сутки.

Высокий уровень липопероксидации в ткани печени животных толерантных к гипоксии компенсировался повышением активности антиоксидантной системы, что, вероятно, и экранировало белки от повреждения. Крысы неустойчивые к гипоксии в контроле отличались более низким уровнем антиоксидантной защиты, который в постреанимационном периоде еще более угнетался. На этом фоне парадоксальной выглядит относительная сохранность липидов у НУ животных. Одним из возможных механизмов, объясняющих этот факт, является большая емкость липофильной антиоксидантной защиты печени у крыс неустойчивых к гипоксии. Это привело к трансдукции процессов свободнорадикального окисления на белки, что, в свою очередь, отразилось на особенностях динамики окислительного стресса в печени в ходе постреанимационного периода: у ВУ животных наблюдалось усиление ПОЛ, а у НУ – активация ОМБ. Следует отметить, что полученные данные согласуются с ранее проведенными результатами исследований особенностей свободнорадикального окисления в пе-

чени в зависимости от устойчивости к гипоксии. Известно, что в печени ВУ животных процессы перекисного окисления липидов протекают с большей интенсивностью [135]. Кроме того, установлено, что НУ животные отличаются большей интенсивностью кетогенеза, для них характерна относительная гиперлипидемия, повышенная проницаемость мембран, гиперкалиемия, гиперкальциемия [88]. Эти особенности липидного обмена у НУ животных, скорее всего, в свою очередь, обуславливают и особенности свободнорадикального окисления в печени в динамике формирования адаптации в постреанимационном периоде.

Способность печени противостоять вызовам среды, обеспечивать на них адекватный метаболический ответ, поддерживать гомеостаз во многом определяет жизнеспособность организма. Печень является одним из главных органов-мишеней для кортикостероидных гормонов, реализующих свое действие через локальную глюкокортикоид-рецепторную сигнализацию [391]. Взаимодействие КС гормонов со своими ядерными рецепторами имеет важное значение для нормальной функции не только печени, но и организма в целом. В физиологических условиях функция ГР печени зависит от циркулирующей концентрации глюкокортикоидов, продуцируемых надпочечниками, и от активности печеночной 11β -гидроксистероиддегидрогеназы 1 типа (11β -HSD1), которая превращает неактивные 11-кетоглюкокортикоид и 11-дегидрокортикостерон в активные кортизол и кортикостерон [31; 179]. Локальную экспрессию 11β -HSD1 в печени может увеличивать активация МР, и этот эффект снимается МР-блокадой [201; 325].

Существенно, что ряд неблагоприятных метаболических эффектов повышенной активности экзогенных глюкокортикоидов в печени связаны с избыточной активацией ГР [317; 404]. Дексаметазон (наиболее часто используемый в клинической практике), в отличие от эндогенных глюкокортикоидов обходит опосредованный 11β -HSD контроль активации ГР, при этом его окисленный метаболит 11-кетодексаметазон также является мощным агонистом ГР [408]. В противоположность этому, повышение активности эндогенных глюкокортикоидов со всеми вытекающими последствиями может быть результатом снижения

активности ГР печени: так, угнетение периферической глюкокортикоидной чувствительности способствует развитию гиперкортизолизма в результате компенсаторного включения механизмов обратной связи гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси [412].

В печени ГР контролирует экспрессию фосфоенолпируваткарбоксикиназы 1 (ФЕПМКК1) и глюкозо-6-фосфатазы: двух ферментов, лимитирующих скорость печеночного глюконеогенеза. В промоторах обоих генов обнаружены функциональные элементы глюкокортикоидной регуляции GRE, являющиеся активаторами транскрипции [210; 413]. Таким образом, глюкокортикоиды через ГР печени регулируют подачу энергии при экстремальных воздействиях, увеличивая уровень глюконеогенеза [261]. В случае тяжелого энергодифицита печень способна отключать АТФ-потребляющие метаболические программы, в том числе глюконеогенез, посредством механизма, включающего фосфорилирование ГР с помощью MARK p38 [361]. С помощью регуляции экспрессии ФЕПМКК1 и глюкозо-6-фосфатазы глюкокортикоидные рецепторы также стимулируют в печени синтез жирных кислот посредством индукции гипергликемии и гиперинсулинемии, причем оба процесса связаны с липогенезом *de novo* [403]. ГР печени контролирует ряд этапов метаболизма аминокислот [422]. В настоящее время стало очевидным, что действие ГР в печени выходит далеко за рамки метаболизма глюкозы и липидов [422]. Таким образом, сбой механизмов быстрой адаптации к регуляторным сигналам в печени приводит к нарушениям метаболического гомеостаза, которые могут иметь далеко идущие последствия.

В нашем исследовании в группе ВУ животных наблюдалась однонаправленная динамика кортикостерона и ГР в печени, статистически значимые положительные корреляции между этими показателями выявлялись по ходу эксперимента в 1-3-и, 7-14-е сутки. Аналогично реагировали на изменение концентрации кортикостерона и МР, но при этом соотношение ГР/МР было преимущественно в пользу первых. Такая реакция рецепторов является закономерной и адекватной: на волне повышения кортикостерона в гормональный ответ вовлекаются не только МР, имеющие высокий аффинитет к гормону, но и ГР.

Это свидетельствует о сохранении в постреанимационном периоде у толерантных животных регулирующего глюкокортикоидного влияния на метаболические процессы в печени.

Напротив, у низкоустойчивых крыс в период 1-3-и сутки векторы колебаний концентраций кортикостерона и его рецепторов-мишеней оказались разнонаправлены: повышение уровня кортикостероидов сопровождалось снижением содержания МР, что позволяет сделать вывод об их десенситизации. Возможной причиной является окислительная деструкция белков, вызывающая повреждение рецепторов и нарушающая их функционирование. Это подтверждается результатами корреляционного анализа: статистически значимые корреляционные связи были выявлены между уровнями МР и КБ ($R = -0,74$) в 1-е сутки, МР и КБ-МКО ($R = -0,75$) на 3-и сутки.

Изменение КС рецепции в группе НУ крыс отмечалось и на 5-е сутки. В этот период уровень кортикостерона резко снижался, а содержание МР и ГР достоверно росло, что свидетельствует о дополнительной стимуляции рецепторов. Возможно, произошло включение механизма регенерации кортикостерона из его неактивных метаболитов с помощью 11β -HSD1, что отражает метаболические потребности органа [163]. Есть данные, что этот фермент дополнительно к своим основным функциям играет определенную роль в метаболизме ксенобиотических карбонильных соединений, выступая как микросомальная редуктаза [310].

С другой стороны, в условиях гипоксии и нарушенного кровообращения существует возможность для стимуляции 11β -HSD2, способствующего активности комплекса альдостерон-МР, описанная в миокарде [257]. Реализация любого из механизмов способна вызвать повышение экспрессии обоих видов рецепторов.

Показано, что стимуляция экспрессии МР в печени вызывает провоспалительные и профибротические эффекты [189]. Установлено, что повышение уровня мРНК МР в печени достоверно коррелирует с экспрессией провоспалительных и про-фиброзных генов, а применение специфического МР-блокатора

эплеренона ослабляет эти эффекты [199; 411]. Есть данные, что изменение экспрессии МР может модулировать окислительный стресс в печени. Показано, что предварительная селективная блокада МР в печени значительно ослабляла воспалительную реакцию (по уровню $\text{TNF-}\alpha$) на повреждение четыреххлористых углеродом, снижала накопление малонового диальдегида и уменьшала проявления цитолиза, нормализовала уровень восстановленного глутатиона в клетках [406].

В ходе нашего эксперимента не наблюдалось сколько-нибудь значительного повышения содержания минералокортикоидных рецепторов у высокоустойчивых к гипоксии животных. Обращает на себя внимание, что в этой группе соотношение содержания двух видов рецепторов либо не нарушалось (3-и, 5-, 35-е сутки), либо смещалось в сторону преобладания ГР (1-е, 7-, 14-, 21-е сутки).

В оппозиционной группе крыс отмечалось постепенное нарастание уровня МР с конца первой недели постреанимационного периода. При этом содержание минералокортикоидных рецепторов у животных с низкой устойчивостью к гипоксии отчетливо превалировало над содержанием глюкокортикоидных. К 35-м суткам наблюдения на фоне роста содержания плазменного кортикостерона концентрация МР в клетках печени достигла максимальных значений. Уровень циркулирующего альдостерона в этой группе животных держался на высоких цифрах в ходе всего эксперимента. В период 14-35-е сутки прослеживалась сильная положительная статистически значимая корреляционная связь между уровнем альдостерона и МР. В этих условиях создаются предпосылки для пролонгирования постишемической воспалительной реакции и развития фибротических изменений со снижением специфических функций печени в отдаленной перспективе.

Известно, что КС гормоны участвуют в регуляции процессов СРО, оказывая воздействие на активность ферментов антирадикальной защиты, в частности, глутатионпероксидазы [360], СОД [250], каталазы [264], глутатион-S-

трансферазы [235]. Установлено, что эта регуляция осуществляется через ГР-сигнализацию.

Одним из активно изучаемых в последнее время факторов кортикостероидной регуляции антиоксидантной защиты является белковый транскрипционный фактор Nrf2 – ключевой регулятор цитопротекции, запускающий в условиях окислительного стресса экспрессию более 100 генов антиоксидантной защиты и детоксикации ксенобиотиков [123]. Механизм его действия сложен и до конца не изучен. В последнее время появились данные о том, что глюкокортикоидные гормоны через ГР-сигнализацию препятствуют активации транскрипции Nrf2 за счет снижения Nrf2-зависимого ацетилирования гистонов [263]. В соответствии с этими наблюдениями, ГР-сигнализация блокирует опосредованную Nrf2 цитозащиту от окислительного стресса.

Было показано также, что в регуляции экспрессии глутатион-S-трансферазы A1 (hGSTA1) человека принимают участие ГР: активированные глюкокортикоидом рецепторы индуцируют экспрессию гена, ответственного за транскрипцию м-РНК глутатион-S-трансферазы. Таким образом, глюкокортикоиды могут изменять метаболизм ксено- и эндобактериальных агентов, опосредуемый этим ферментом [235].

Процессы биотрансформации ксенобиотиков в печени могут быть зависимы от интенсивности окислительного стресса. Известно, что на функциональную активность «липид-ферментного» комплекса эндоплазматического ретикулума гепатоцитов, включающего цитохром P450-зависимую цепь метаболизма ксенобиотиков, влияют различные факторы, в том числе процессы, изменяющие состав и физико-химические свойства липидного компонента мембран эндоплазматического ретикулума [9; 25; 26]. По этой причине интенсификация ПОЛ в микросомах приводит к угнетению микросомального окисления [38].

В наших исследованиях у ВУ к гипоксии крыс были выявлены положительные корреляционные взаимосвязи между содержанием каталазы и ГР: рост уровня рецептора сопровождался увеличением активности фермента, статистическую значимость корреляции имели в большинстве контрольных точек: 1-е

сутки ($R=0,76$), 5-е ($R=0,71$), 7-е ($R=0,68$), 21-е ($R=0,65$) сутки. В 1-3-и и 14-е сутки, соответствующие двум волнам эндотоксикоза постреанимационного периода [121], между уровнем восстановленного глутатиона и содержанием ГР была установлена сильная отрицательная корреляционная связь ($R= -0,65$, $R= -0,76$), свидетельствующая о сопряженности расхода глутатиона с активностью ГР. На 14-е сутки отмечалась сильная положительная корреляционная связь между МР и восстановленным глутатионом: т.е. минимальный уровень глутатиона совпал с минимальным уровнем МР ($R=0,81$).

В группе животных НУ к гипоксии в первую волну эндотоксикоза постреанимационного периода [121] отмечались минимальные показатели активности СОД и каталазы, которые статистически значимо отрицательно коррелировали с содержанием рецепторов (1-е сутки ГР/каталаза, $R= -0,67$, 3-и сутки ГР/СОД, $R= -0,73$). На 5-е сутки максимальное содержание ГР также статистически значимо, но уже положительно коррелировало с содержанием ключевых антиоксидантных ферментов СОД и каталазы. Начало и разгар второй волны эндотоксикоза [121] вновь характеризовались появлением значимых отрицательных корреляционных связей между минимальными уровнями ГР и СОД (7-е сутки $R= -0,73$, 14-е сутки $R= -0,89$), ГР и каталазы (7-е сутки $R= -0,63$, 14-е сутки $R= -0,75$). В этот период впервые начинали выявляться корреляции между МР и каталазой (7-е сутки $R= -0,84$), МР и восстановленным глутатионом (14-е сутки $R= 0,68$). Корреляционные связи между уровнями МР и восстановленного глутатиона выявлялись и на 21-е сутки ($R= -0,67$), и на 35-е ($R= -0,72$).

Сказанное позволяет сделать заключение о влиянии на функциональность кортикостероидных рецепторов интенсивности окислительного стресса.

Таким образом, в группе животных ВУ к гипоксии в течение всего постреанимационного периода отчетливо прослеживается преобладающая адаптивная активность ГР с сохранением регуляторных кортикостероидных влияний. У НУ к гипоксии крыс в период 1-3-и и 7-14-е сутки наблюдалось нарушение регулирующего влияния кортикостерона, реализуемого через глюкокортикоидные рецепторы, на активность антиоксидантных ферментов. Возможным

механизмом (согласно данным литературы) является нарушение функции транскрипционного фактора Nrf2.

Изменение кортикостероидной рецепции, наблюдаемое у крыс неустойчивых к гипоксии в раннем восстановительном периоде после гипоксии-реоксигенации, связано с высокой активностью процессов ОМБ в ткани печени. При гипокортикостеронемии и гиперальдостеронемии, отмечаемых в этой группе животных начиная со второй недели постреанимационного периода, создаются предпосылки для стимуляции минералокортикоидных рецепторов с развитием комплекса реализуемых ими эффектов. Свой вклад в повышение селективности альдостерона по отношению к МР в печени в условиях гипоксии и нарушенного кровообращения может вносить активация 11β -HSD2 (по данным литературы).

Таким образом, высокая активность окислительного стресса, проявляющаяся развитием карбонильного стресса у НУ животных на фоне снижения активности ключевых антиоксидантов, сопряжена с более выраженными изменениями динамики кортикостероидных рецепторов. И напротив, относительно низкая интенсивность СРО у ВУ крыс, характеризующаяся только усилением липопероксидации, сопровождается сохранением, в целом, функциональности рецепторов.

Выявленные особенности динамики формирования окислительного стресса в печени ВУ и НУ животных в постреанимационном периоде могут оказать существенное влияние на биотрансформацию ксенобиотиков, в том числе и лекарственных препаратов, используемых в коррекции постишемических/постгипоксических расстройств и инфекционно-воспалительных осложнений у пациентов, перенесших клиническую смерть.

Особенности проявления окислительного стресса в крови животных с разной устойчивостью к гипоксии

Окислительный стресс, развившийся после остановки системного кровообращения и последующей реперфузии в крови, имел свои особенности, зависящие от исходной устойчивости животных к гипоксии.

Уровень продуктов липопероксидации в плазме крови, определяемый по накоплению ТБК-рп, исходно более высокий у животных толерантных к гипоксии, статистически значимо превышал контрольные значения в течение всего периода наблюдения вне зависимости от фенотипа устойчивости к гипоксии. При этом наибольший прирост продуктов ПОЛ наблюдался у ВУ животных, а наименьший – в группе НУ животных.

В противоположность этому, исходная активность ОМБ у ВУ животных была ниже, чем у НУ, и эти отличительные особенности также сохранялись в ходе всего эксперимента. Таким образом, для высокоустойчивых к гипоксии животных в постреанимационном периоде была характерна высокая устойчивость белков плазмы крови к свободнорадикальному окислению на фоне высокого уровня липидной пероксидации. Крысы с низкой устойчивостью к гипоксии демонстрировали высокий уровень ОМБ на фоне относительно низкой интенсивности ПОЛ.

Несмотря на то, что отдельные звенья антиоксидантной системы крови животных с разным фенотипом устойчивости по-разному реагировали на тяжелую гипоксию, в целом можно констатировать большую устойчивость АОЗ у толерантных к гипоксии животных.

Данные литературы [46; 112] свидетельствуют о том, что уровень продуктов СРО зависит от следующих факторов:

- изменения количества и/или доступности субстратов для свободнорадикальных процессов;
- изменения количества и/или активности прооксидантов;
- изменения количества и / или активности антиоксидантов.

Следствием сопряженности двух последних факторов является преобладание тех или иных продуктов СРО в ткани. В общих чертах, в плазме крови животных независимо от степени устойчивости к гипоксии четко прослеживается реципрокность динамики продуктов липопероксидации и окислительной модификации белков: высокий уровень ПОЛ ассоциирован с низким уровнем ОМБ, и наоборот.

Такая картина наблюдается в ситуациях, сопровождающихся адекватным ответом АОЗ, что согласуется с данными по активности ключевых водорастворимых антиоксидантов. Поэтому транзиторная активация ПОЛ у высокоустойчивых к гипоксии животных не сопровождается усилением ОМБ. То есть, свободнорадикальное повреждение молекул ограничивается только липидами за счет адекватной емкости и сохранности антиоксидантных систем, экранирующих белки. У низкоустойчивых животных, напротив, относительная «сохранность» липидов, видимо, в силу относительно большей емкости липофильных антиоксидантных систем, является причиной активации ОМБ.

Исходя из вышеизложенного, следует отметить, что относительно низкий уровень ТБК-рп в группе НУ животных может быть связан с относительно меньшим уровнем субстратов для переоисления, т.е. ненасыщенных ацильных остатков в структуре липидов. Таким образом, у НУ животных основным проявлением окислительного стресса является усиление ОМБ, а у ВУ животных – активация ПОЛ. Поскольку у животных НУ к гипоксии на протяжении всего периода наблюдения наблюдалось статистически значимое повышение как ПОЛ, так и ОМБ, можно говорить о большей выраженности окислительного стресса в данной группе.

Влияние цитофлавина на особенности реализации защитно-компенсаторного ответа

Для реализации адаптивно-компенсаторных реакций в восстановительном периоде после экстремального воздействия требуется согласование большого количества метаболических процессов, включая свободнорадикальное окисление, осуществляемое, в ряду прочих, при участии ГГАС. Показано, что одним из ведущих патофизиологических механизмов, влияющих на течение постстрессового периода после действия системной гипоксии, является активация СРО с развитием достаточно стереотипных метаболических сдвигов [155; 165]. Следовательно, поддержание ресурсов антиоксидантной защиты и антигипоксическая цитопротекция являются важнейшими факторами коррекции метаболических нарушений в периоде реабилитации после остановки кровообращения [113; 114]. Цитофлавин, обладая комплексом характеристик, благотворно

влияющих на клеточный метаболизм и ход энергообразования [32; 106], вызвал закономерную перестройку антиоксидантной защиты и модификацию процессов СРО в тканях.

Полученные нами результаты не противоречили данным, описанным в литературе [32; 51; 54; 80; 150]. Общим итогом применения цитофлавина в постреанимационном периоде стали существенные сдвиги в АОЗ всех исследованных тканей. У высокоустойчивых животных это проявилось сдвигом максимальной активности ферментов на более ранний срок на фоне стабилизации их динамики. У низкоустойчивых особей наблюдалось общее повышение содержания и активности ферментов и сближение с показателями высокоустойчивых.

Изменения в антиоксидантной защите способствовали снижению активности СРО в тканях в обеих группах животных. Более выраженным этот эффект был у низкоустойчивых особей. При сохранении, в целом, реципрокности липопероксидации и окислительной модификации белков, у низкоустойчивых крыс статистически значимо снизились уровни карбонилированных белков, и существенно повысился резервно-адаптационный потенциал.

Таким образом, одним из важнейших адаптивных следствий регулярного введения энергокорректора и антигипоксанта цитофлавина в постреанимационном периоде стало снижение интенсивности карбонильного стресса, как наиболее тяжелого проявления окислительного стресса в группе животных неустойчивых к гипоксии.

Особенно интересные результаты исследования касались изменения динамики содержания и функционирования кортикостероидных рецепторов.

В ЦНС на фоне коррекции течения постреанимационного периода цитофлавином снизилась интенсивность свободнорадикальных процессов и увеличилась активность компонентов антиоксидантной защиты. Особенно отчетливо это проявилось у низкоустойчивых к гипоксии животных. Наиболее весомым результатом, достигнутым у НУ крыс, явилась нормализация соотношения МР/ГР, играющего важную роль в регуляции функции ГГАС, на фоне уменьшения редукции МР. Для ВУ животных после терапии цитофлавином было харак-

терно отчетливое превалирование уровня МР над ГР во все контрольные отрезки времени при восстановлении концентрации глюкокортикоидных рецепторов.

Выявленные изменения имеют чрезвычайно важное патогенетическое значение, поскольку экспрессия МР вызывает прямые защитные эффекты на нейронном уровне, а их избыточная экспрессия снижает гибель нейронов после транзиторной церебральной глобальной ишемии [251]. В свою очередь восстановление содержания ГР играет позитивную роль в снижении уровня тревожности ВУ животных [168].

Функциональным выражением этих изменений у НУ крыс стало восстановление регуляторных механизмов отрицательной обратной связи и смещение пика кортикостеронемии на первые сутки постреанимационного периода, что соответствует общепринятым представлениям о стрессовой активации гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы. Безусловно положительную роль в восстановлении ОЦК и кровообращения в обеих группах животных сыграла тенденция к нормализации уровня альдостерона по сравнению с нелечеными животными.

Ограничение СРО в ЦНС позволило сократить сроки восстановления неврологического статуса в обеих группах животных, нивелировало разницу между общим состоянием ВУ и НУ крыс, снизило общую летальность. Терапия цитофлавином трансформировала динамику поведенческих реакций и сбалансировало их: чрезмерная активация исследовательских паттернов, требующая значительных затрат энергии, была несколько заторможена, а угнетенные реакции, важные для поддержания жизнеспособности – оживлены. Следует подчеркнуть, что более выраженный положительный терапевтический эффект был достигнут у низкоустойчивых особей.

В периферических тканях применение цитофлавина лимитировало проявления окислительной модификации белков и липопероксидации, что нашло отражение в снижении степени десенситизации глюко- и минералокортикоидных рецепторов в первые контрольные отрезки постреанимационного периода. Пик концентрации ГР почти во всех органах переместился на первые сутки. Указанные

изменения были отмечены у всех животных и весьма важны, так как дают возможность максимально проявиться протекторным свойствам глюкокортикоидов. Большинство противовоспалительных эффектов глюкокортикоидов объясняется транспрессивной функцией ГР, заключающейся в подавлении генов воспалительного ответа и увеличении транскрипции компонентов противовоспалительных генов [198; 412]. Поэтому дальнейшие нормализация или даже некоторое повышение уровня ГР, характерные для особей с исходно низкой резистентностью к гипоксии и сохранявшиеся в течение всего постреанимационного периода, можно рассматривать как важный саногенетический фактор, способствующий более быстрому и полному восстановлению.

У ВУ к гипоксии животных на фоне введения цитофлавина произошли снижение и нормализация уровня ГР в позднем восстановительном периоде, что уменьшает вероятность развития отсроченных нарушений. Этот фактор особенно важен для миокарда: длительное повышение экспрессии ГР под действием как эндо-, так и экзогенных глюкокортикоидов подавляет ангиогенез и может способствовать развитию ремоделирования желудочков [209, 257].

Другой значимый результат терапии цитофлавином – нормализация (или тенденция к нормализации) уровня МР у НУ животных на фоне оптимизации кортикостероидного баланса и восстановления механизмов обратной связи. Этот эффект максимально проявился в позднем постгипоксическом периоде и очень важен для полноценной реабилитации и снижения риска развития поздних профибротических осложнений. Значительное повышение содержания МР, наблюдавшееся у нелеченых животных на фоне высоких концентраций в плазме альдостерона, рассматривается как негативный фактор, способствующий процессам патологического ремоделирования, фиброзированию и развитию функциональной недостаточности органа.

Таким образом, наиболее выраженное влияние цитофлавина на кортикостероидные рецепторы отмечалось в ранние (восстановление содержания и чувствительности рецепторов) и поздние (снижение подавляющего превалирования минералокортикоидных рецепторов в группе НУ крыс и глюкокортикоидных рецепто-

ров у ВУ) контрольные отрезки реабилитационного периода. Уменьшение дисбаланса между содержанием ГР и МР и нормализация их соотношения является одним из условий полноценного восстановления функции органа [179; 320; 347; 366]. Общей чертой произошедших изменений было сближение значений исследованных показателей животных с разной устойчивостью к гипоксии.

Выявленная в эксперименте эффективность применения цитофлавина не только определяет возможные пути разработки принципов коррекции критических состояний, но и подтверждает сделанное в предыдущем блоке исследований заключение о ведущей роли СРО в развитии дезадаптивных метаболических последствий в периоде реабилитации после остановки кровообращения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем экспериментальном исследовании проанализированы обусловленные исходно разной чувствительностью к гипоксии различные варианты (стратегии) реализации адаптационно-компенсаторного ответа на тяжелую острую гипоксию в постреанимационном периоде. Систематизация результатов собственного исследования в совокупности с анализом данных литературы позволяет представить следующую обобщенную схему патогенеза развития адаптационно-компенсаторных реакций после остановки системного кровообращения у животных с исходно разной устойчивостью к гипоксии (рисунок 53). Характер и выраженность нарушений гомеостаза зависят от фенотипа устойчивости к гипоксии и сроков реабилитационного периода. Наиболее существенные различия выявляются в 1-3-и и 21-35-е сутки после перенесенного критического состояния.

1-3 сутки постреанимационного периода. Системные гемодинамические сдвиги, вызванные моделированием клинической смерти и реанимационными мероприятиями, инициируют развитие мощного стресса с активацией ГГАС. Острая остановка кровообращения вызывает критическое уменьшение напряжения кислорода с развитием тканевой гипоксии и энергодефицита, а последующая реперфузия усугубляет дистрофические и некробиотические изменения клеток и приводит к масштабным последствиям, обозначаемым как окислительный стресс.

Интенсивность окислительного стресса в центральной нервной системе (на уровне гиппокампа) зависит от степени состоятельности антиоксидантной защиты и является определяющим в поддержании динамического равновесия между глюко- и минералокортикоидными рецепторами и регуляции функции гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы.

У животных с исходно низкой устойчивостью к гипоксии в 1-е сутки постреанимационного периода под влиянием высокой интенсивности окислительного стресса (в его наиболее тяжелом проявлении – карбонильном стрессе)

Примечание: АФК – активные формы кислорода, СРО – свободнорадикальное окисление, КТ – кортикотропин, ГК – глюкокортикоиды, МК – минералокортикоиды, ПОЛ – перекисное окисление липидов, ОМБ – окислительная модификация белков, ГР – глюкокортикоидные рецепторы, МР – и минералокортикоидные рецепторы, АОЗ – антиоксидантная защита, → – дисрегуляция обратной связи

на фоне несостоятельности АОЗ возникает критическое снижение минералокортикоидных рецепторов при относительно сохранном уровне глюкокортикоидных. Возникающий вследствие гипоксического и свободнорадикального повреждения клеток ЦНС морфо-функциональный дефект в конечном итоге приводит к резкому угнетению всех компонентов ориентировочно-исследовательской активности.

У животных исходно резистентных к гипоксии конститутивно более мощная АОЗ препятствует драматической редукции минералокортикоидных рецепторов – имеет место лишь тенденция к их снижению при сохранении баланса рецепторов. Как следствие, меньшая, по сравнению с низкоустойчивыми животными, выраженность патоморфологических изменений в коре больших полушарий головного мозга функционально проявляется меньшей степенью нарушения поведенческих паттернов.

Нарушение рецепторного баланса, обусловленное резким снижением уровня МР и значительным превалированием ГР, вызывают у низкоустойчивых к гипоксии особей расстройства механизмов стрессовой трансформации ГГАС с повреждением отрицательной обратной связи. Это проявляется одновременным повышением плазменной концентрации кортикотропина и кортикостерона и удлинением фазы гиперкортикоидного состояния, являющегося показателем масштабности метаболических нарушений и оказывающего токсическое действие на гиппокамп за счет оккупации всех рецепторов.

У высокоустойчивых к гипоксии животных сохранение баланса глюко- и минералокортикоидных рецепторов является решающим фактором в поддержании регулирующей функции ГГАС, а изменения гормонального профиля плазмы соответствуют классическим представлениям о стрессовой активации ГГАС.

Функциональность периферической рецепции в ранние сроки постстрессового периода также сопряжена с интенсивностью окислительного стресса. Недостаточная эффективность антиоксидантных механизмов на фоне высокой активности аэробного метаболизма у животных с низкой устойчивостью к гипоксии сопровождается развитием во всех исследованных тканях карбониль-

ного стресса разной степени интенсивности. Это вызывает повреждение рецепторных белков, сопровождающееся значительным снижением уровней глюко- и минералокортикоидных рецепторов при высоких значениях плазменных гормонов и обуславливающее невозможность полноценной реализации адаптивного стрессорного ответа. В результате этого происходит прогрессирующая дестабилизация гомеостаза и срыв компенсаторных механизмов с развитием дезадаптивных последствий в виде угрожающей жизни функциональной несостоятельности органов.

Для ВУ к гипоксии животных характерна более высокая конститутивная, а также индуцибельная антиоксидантная защита, что в совокупности с особенностями функционирования митохондриального ферментного комплекса I обеспечивает в периферических тканях стратегию избегания окислительного повреждения биомолекул. Это обуславливает сохранность в раннем постгипоксическом периоде чувствительности кортикостероидных рецепторов к гормональной стимуляции, способствует стрессорной перестройке метаболических процессов в ответ на дестабилизацию гомеостаза, сопровождается меньшей летальностью и формированием состояния компенсации.

На 21-35-е сутки реабилитационного периода нарушения микроциркуляции и гипоксия сохраняются и пролонгируют состояние окислительного стресса, однако его напряженность в динамике значительно меняется (рисунок 54).

На уровне ЦНС у животных с низкой устойчивостью к гипоксии происходит восстановление/увеличение активности ферментов АОЗ, тем не менее повышенный уровень маркеров ОМБ сохраняется. В подавление эмоциональной тревожности вносят вклад общее снижение активности кортикостероидных рецепторов гиппокампа и десенситизация синапсов вследствие повышенной активности ОМБ. В наших экспериментах баланс МР/ГР в гиппокампе остается смещенным в сторону превалирования последних, однако значительно уменьшается степень редукции минералокортикоидных рецепторов, что находит отражение в восстановлении регуляторных механизмов отрицательной обратной связи, характерной для физиологического функционирования ГГАС.

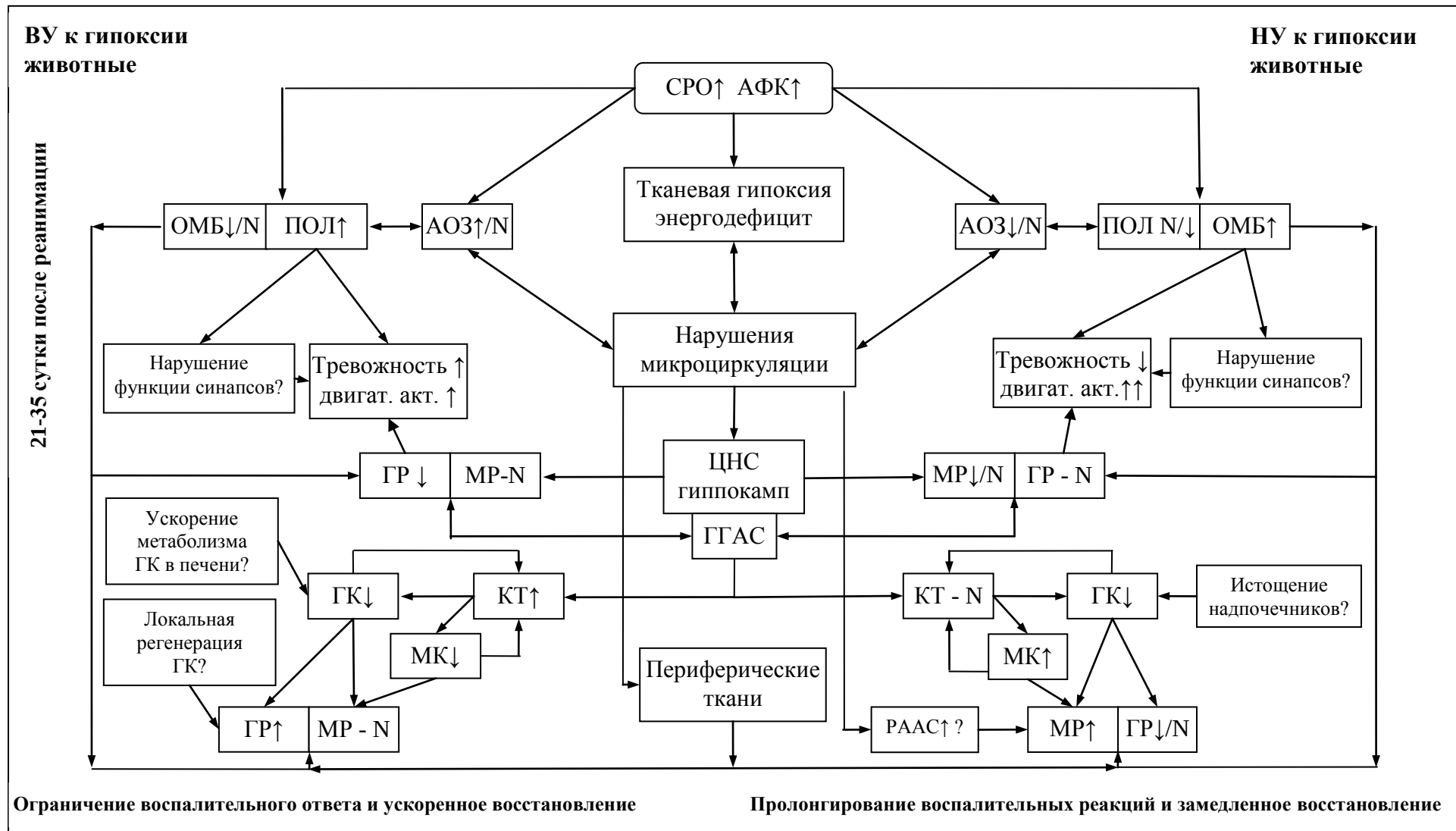


Рисунок 54 – Схема патогенеза развития адаптационно-компенсаторных реакций после остановки системного кровообращения у животных с исходно разной устойчивостью к гипоксии. 21-35-е сутки после реанимации

Примечание: АФК – активные формы кислорода, СРО – свободнорадикальное окисление, КТ – кортикотропин, ГК – глюкокортикоиды, МК – минералокортикоиды, ПОЛ – перекисное окисление липидов, ОМБ – окислительная модификация белков, ГР – глюкокортикоидные рецепторы, МР – минералокортикоидные рецепторы, АОЗ – антиоксидантная защита

Несмотря на повышение эффективности АОЗ и невысокую активность окислительной модификации белков, интенсивность липопероксидации в ЦНС у ВУ животных в позднем периоде восстановления по-прежнему остается высокой. В этих условиях значительное повышение содержания МР, имеющих прямые защитные эффекты на нейрональном уровне, также является отображением активации адаптивных процессов. Ярко выраженное повышение эмоциональной тревожности ВУ животных обусловлено гипоэкспрессией ГР, что усугубляется нарушенным балансом рецепторов в совокупности с окислительным повреждением синаптических структур.

Гормональный дисбаланс сохраняется в обеих группах и на позднем этапе восстановления. В условиях нормального функционирования механизмов обратной связи баланс гормонов отражает возможности адекватного ответа периферического отдела ГГАС на сигналы. Низкий уровень глюкокортикоидов при нормальном или повышенном уровне кортикотропина может быть обусловлен истощением надпочечников вследствие массивного образования гормонов в раннем постреанимационном периоде и/или ускорением их метаболизма в печени. Высокий уровень альдостерона в группе НУ к гипоксии особей является результатом аномальной активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы.

В периферических тканях в позднем постгипоксическом периоде сохраняется реципрокность отношений между динамикой ПОЛ и ОМБ: у НУ к гипоксии крыс преобладает окислительная модификация белков, у ВУ – перекисное окисление липидов.

В отдаленные сроки восстановительного периода имеющиеся различия в периферической кортикостероидной рецепции животных с разной устойчивостью к гипоксии углубляются. Общей тенденцией, характерной для ВУ крыс, является нарушение баланса рецепторов со значительным повышением содержания ГР в тканях на фоне низкого уровня глюкокортикоидов, что свидетельствует о дополнительной стимуляции ГР. Подобная возможность может быть обеспечена за счет локальной регенерации в тканях активного кортикостерона из неактивного метаболита при участии фермента 11β HSD 1 типа в условиях

смещения редокс-равновесия. Такой путь реализации адаптационно-компенсаторных процессов за счет максимального включения протекторных противовоспалительных свойств глюкокортикоидов способствует ограничению воспалительного ответа и ускорению процессов восстановления.

У НУ животных на поздних этапах восстановления прослеживается другая тенденция: баланс рецепторов резко смещен в сторону преобладания минералокортикоидных рецепторов. Такая направленность развития приспособительных реакций в условиях гиперальдостеронизма и гипокортицизма способствует пролонгированию воспалительных реакций и замедлению восстановления, а в отдаленной перспективе – процессам патологического ремоделирования, фиброзированию и формированию функциональной недостаточности органа.

Общим итогом применения **цитофлавина** в постреанимационном периоде стали существенные позитивные сдвиги в антиоксидантной защите, что способствовало снижению активности СРО во всех исследованных тканях в обеих группах животных. Более выраженным этот эффект был у НУ особей, у которых было отмечено снижение интенсивности карбонильного стресса.

В ЦНС на фоне снижения интенсивности свободнорадикальных процессов наиболее весомым результатом, достигнутым у НУ крыс, явилась нормализация соотношения МР/ГР на фоне уменьшения редукции МР. Функциональным выражением этих изменений у НУ крыс стало восстановление механизмов отрицательной обратной связи и смещение пика кортикостеронемии на первые сутки постреанимационного периода. Безусловно положительную роль в восстановлении объема циркулирующей крови и кровообращения в обеих группах животных сыграла тенденция к нормализации уровня альдостерона по сравнению с нелечеными животными.

Для ВУ животных после терапии цитофлавином было характерно отчетливое превалирование уровня МР над ГР во все контрольные отрезки времени при восстановлении концентрации глюкокортикоидных рецепторов. Восстанов-

ление содержания ГР играет позитивную роль в снижении уровня тревожности ВУ животных.

В периферических тканях применение цитофлавина привело к снижению степени десенситизации глюко- и минералокортикоидных рецепторов в 1-3-и сутки. Пик концентрации ГР почти во всех органах переместился на первые сутки.

У ВУ к гипоксии животных на фоне введения цитофлавина произошли снижение и нормализация уровня ГР в позднем восстановительном периоде, что уменьшает вероятность развития отсроченных нарушений.

У НУ животных наблюдалась нормализация (или тенденция к нормализации) уровня МР на фоне оптимизации гормонального баланса и восстановления механизмов обратной связи. Этот эффект максимально проявился в позднем постгипоксическом периоде и очень важен для полноценного восстановления функции и снижения риска развития поздних профибротических осложнений. Общей чертой произошедших изменений было сближение значений исследованных показателей животных с разной устойчивостью к гипоксии.

Полученные в ходе экспериментальных исследований данные свидетельствуют о том, что адаптационно-компенсаторные процессы, развивающиеся после остановки системного кровообращения, находят отражение в определенном наборе эволюционно закрепленных механизмов, реализуемых на различных уровнях регуляции гомеостаза: центральное нейроэндокринное звено (гиппокамп), гормональный профиль плазмы крови, рецепторное звено органов-мишеней. Выбор индивидуальной стратегии реагирования на тяжелую повреждающую гипоксию и формирование индивидуальных форм адаптации зависят от исходных фенотипических свойств организма и комплекса условий, способствующих или препятствующих реализации генетически детерминированного адаптационно-компенсаторного ответа.

Выводы

1. Развитие различных вариантов адаптационно-компенсаторного ответа на тяжелую острую гипоксию в постреанимационном периоде зависит от исходной устойчивости организма к гипоксии. Важную роль в формировании различий играет свободнорадикальный механизм, который нарушает и дезинтегрирует разноуровневую регуляцию гомеостаза и координацию метаболических процессов, осуществляемых при участии гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы и обеспечивающих реализацию защитно-приспособительных реакций в периоде реабилитации.
2. Усиление липопероксидации и ограничение окислительной модификации белков на фоне относительной сохранности антиоксидантной защиты характерны для высокой устойчивости центральной нервной системы к гипоксии в постреанимационном периоде, а супрессия липопероксидации и активация карбонильного стресса, протекающего в условиях недостаточности антиоксидантной защиты, напротив, могут свидетельствовать о низкой устойчивости.
3. Характер нарушения баланса кортикостероидных рецепторов в гиппокампе в постреанимационном периоде зависит от степени устойчивости к гипоксии. Снижение уровня преимущественно минералокортикоидных рецепторов может указывать на исходно низкую устойчивость организма к гипоксии, а глюкокортикоидных – на высокую. При этом указанные изменения коррелируют с различной интенсивностью развивающегося в центральной нервной системе окислительного стресса.
4. Отклонения в поведенческих реакциях, возникающие вследствие повреждающего действия гипоксии, зависят от фенотипа устойчивости к гипоксии и коррелируют с интенсивностью и характером окислительных нарушений и содержанием центральных кортикостероидных рецепторов. Повышение тревожности, корреляционно связанное с усилением липопероксидации в центральной нервной системе и снижением уровня глюкокорти-

коидных рецепторов, может служить признаком высокой устойчивости к гипоксии, а подавление тревожности, сопряженное с активацией карбонильного стресса – признаком низкой устойчивости.

5. Разная степень устойчивости к гипоксии сопровождается различной картиной морфологических изменений неокортекса больших полушарий головного мозга в постреанимационном периоде: значительная степень дистрофии нейронов и астроцитов, нарушений cito- и глиоархитектоники, расстройств микроциркуляции отличают низкую устойчивость к гипоксии, а неселективность и незначительная выраженность структурных изменений – высокую.
6. Остановка системного кровообращения вызывает развитие стойкого гипокортикоидного состояния независимо от фенотипа устойчивости к гипоксии. При этом гипоальдостеронемия может свидетельствовать об исходной толерантности, а гиперальдостеронемия – исходно низкой устойчивости к гипоксии. Дизрегуляция механизмов обратной связи при низкой резистентности к гипоксии является следствием дисбаланса центральных кортикостероидных рецепторов.
7. Характер и интенсивность окислительного стресса не зависят от типа ткани, но имеют особенности, обусловленные исходной устойчивостью к гипоксии: при высокой устойчивости свободнорадикальному повреждению подвергаются в большей степени липиды, при низкой – белки.
8. Периферическая кортикостероидная рецепция имеет особенности, связанные с фенотипом устойчивости к гипоксии и сроками восстановительного периода. Для низкой степени устойчивости к гипоксии в первые трое суток постреанимационного периода характерны снижение содержания и десенситизация кортикостероидных рецепторов, коррелирующие с активностью карбонильного стресса, и значительное нарастание к концу 35-суточного мониторинга концентрации минералокортикоидных рецепторов (в 1,4-1,6 раза). Высокую степень устойчивости к гипоксии в раннем восстановительном периоде отличает сохранение уровня и чувствительности кортико-

стероидных рецепторов к стимуляции, в позднем – существенное увеличение содержания глюкокортикоидных рецепторов (в 1,3-1,6 раза).

9. Особенности функционально-метаболического статуса, зависящего от фенотипа устойчивости к гипоксии, влияют на реализацию адаптационно-компенсаторных реакций в раннем и позднем постреанимационном периоде, что обуславливает целесообразность применения в клинической практике предикторов устойчивости к гипоксии – определения в крови уровня альдостерона и соотношения интенсивности липопероксидации и окислительной модификации белков.
10. Эффективность фармакологической коррекции нарушений, возникающих в постреанимационном периоде, препаратом с комплексным антигипоксическим и антиоксидантным действием зависит от устойчивости к гипоксии и подтверждает свободнорадикальный механизм формирования дезадаптации. Повышение активности антиоксидантной защиты, снижение интенсивности окислительного стресса, позитивная динамика гормонального статуса, улучшение гормон-рецепторных функциональных взаимоотношений приводит к уменьшению неврологического дефицита и сроков восстановления.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- 11 β HSD – 11 β -гидроксистероиддегидрогеназа
2,4-ДНФГ – 2,4 - динитрофенилгидразин
GSH – восстановленный глутатион
АОЗ – антиоксидантная защита
АФК – активные формы кислорода
БТ – битирозин
ВУ – высокоустойчивые к гипоксии животные
ГГАС – гипоталамо-гипофизарно-адреналовая система
ГДА – горизонтальная двигательная активность
ГКГ – глюкокортикоидный гормон
ГКС – глюкокортикостероиды
ГР – глюкокортикоидный рецептор
ГПО – глутатиопероксидаза
ГТ – глутатионтрансфераза
КБ – карбонилированные белки
КБ-МКО – металл-катализируемое окисление белков
КС – кортикостерон
КТ – кортикотропин
МК – минералокортикоиды
МР – минералокортикоидный рецептор
НУ – низкоустойчивые к гипоксии животные
ОАА – общая антиоксидантная активность
ОИА – ориентировочно-исследовательская активность
ОМБ – окислительная модификация белков
ПОЛ – перекисное окисление липидов
РАП – резервно-адаптационный потенциал
СОД – супероксиддисмутаза
СРО – свободнорадикальное окисление
ТБК-рп – продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой
ЦНС – центральная нервная система
ЦФ – цитофлавин

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова, Е.Б. Протеасома: разрушение во имя созидания / Е.Б. Абрамова, В.Л. Карпов // Природа. – 2003. – № 7. – С. 36-45.
2. Аврущенко, А.Ш. Постреанимационные изменения мозга на уровне нейрональных популяций: закономерности и механизмы / А.Ш. Аврущенко // Общая реаниматология. – 2012. – Т. 8, № 4. – С. 69.
3. Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
4. Активность прооксидантных и антиоксидантных ферментов крови у крыс с гипокортикоидными и гиперкортикоидными состояниями / Синицкий А.И., Комелькова М.В., Козочкин Д.И. [и др.]. // Человек. Спорт. Медицина. – 2014. – Т. 14, № 1. – С. 73-77.
5. Активность ферментов синтеза гема в костном мозге и печени крыс линии Август и Вистар в период новорожденности и после острой постнатальной гипоксии / Колесников С.И., Попова А.С., Синицкий А.И. [и др.]. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 160, № 8. – С. 152-154.
6. Анализ параметров индивидуальной устойчивости лабораторных животных к гипоксии в интересах биологического моделирования нейропротекторного и антигипоксического действия лекарственных средств / Е.Б. Шустов, Н.Н. Каркищенко, В.Н. Каркищенко, Х.Х. Семенов // Биомедицина. – 2013. – № 4. – С. 149-157.
7. Антигипоксанты в современной клинической практике / С.В. Оковитый, Д.С. Суханов, В.А. Заплутанов, А.Н. Смагина // Клиническая медицина. – 2012. – № 9. – С. 63-69.
8. Арутюнян, А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: метод. рек. / А.В. Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.Н. Зыбина // – СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000. – 104 с.

9. Арчаков, А.И. Микросомальное окисление / А.И. Арчаков. – М.: Наука, 1975. – 326 с.
10. Атрошенко, О.Н. Влияние беметила, этomezола и тиетазола на индивидуальное поведение мышей / О.Н. Атрошенко, А.С. Лосев, Р.Ф. Садыков // Здравоохранение Башкортостана. – 1999. – №4. – С. 53-58.
11. Афанасьев, В.В. Особенности применения цитофлавина в современной клинической практике / В.В. Афанасьев, И.Ю. Лукьянова // СПб.: «Тактик-Студио», 2010. – 80 с.
12. Байбурина, Г.А. Роль путей клеточной сигнализации в развитии последствий окислительного стресса / Г.А. Байбурина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2016. – № 2. – С. 82-91.
13. Байбурина, Г.А. Структурно-морфологические изменения в головном мозге после ишемии-реперфузии у крыс с разной устойчивостью к гипоксии / Г.А. Байбурина, Е.А. Нургалеева // Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине: сборник статей международной научно-практической конференции, 20-22 мая 2015 г., Санкт-Петербург. – СПб., 2015. – Т. 1. – С. 20-23.
14. Березовский, В.А. Гипоксия и индивидуальные особенности реактивности / В.А. Березовский. – Киев: Наукова думка, 1978. – 215 с.
15. Биленко, М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения) / М.В. Биленко. – М.: Медицина, 1989. – 368 с.
16. Биохимические стратегии адаптации в условиях хронического стресса / В.Э. Цейликман, О.Б. Цейликман, А.И. Сеницкий [и др.] // Вестник ЮУрГУ. – 2008. – № 4. – С. 56-57.
17. Бокерия, О.Л. Внезапная сердечная смерть и ишемическая болезнь сердца / О.Л. Бокерия, М.Б. Биниашвили // Неинвазивная аритмология. – 2013. – Т. 10, № 2. – С. 69-79.

18. Бокерия, О.Л. Внезапная сердечная смерть: механизмы возникновения и стратификация риска / О.Л. Бокерия, А.А. Ахобеков // *Анналы аритмологии*. – 2012. – № 3. – С. 5-13.
19. Болдырев, А.А. Двойственная роль свободнорадикальных форм кислорода в ишемическом мозге / А.А. Болдырев // *Нейрохимия*. – 1995. – Т. 12, № 3. – С. 246-257.
20. Будаев, А.В. Тканевой кровоток головного мозга в постреанимационном периоде у животных, перенесших клиническую смерть / А.В. Будаев // *Общая реаниматология*. – 2006. – Т. 2, № 5-6. – С. 79-84.
21. Буреш, Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д.П. Хьюстон. – М.: Высшая школа, 1991. – 398 с.
22. Взаимосвязи уровней циркулирующего кортикостерона, экспрессии центральных кортикостероидных рецепторов и изменения поведенческой активности крыс с разной устойчивостью к гипоксии в динамике восстановления после экстремальной гипоксии / Г.А. Байбурина, Е.А. Нургалеева, И.Л. Никитина [и др.] // *Современные проблемы науки и образования*. – 2017. – № 4; URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=26624> (дата обращения: 24.07.2017).
23. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю.А. Владимиров // *Соросовский общеобразовательный журнал*. – 2000. – Т. 6, № 12. – С. 13-19.
24. 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 / М.В. Комелькова, Д.А. Козочкин, М.Е. Мишарина [и др.] // *Вестн. ЮУрГУ. Сер. Образование, здравоохранение, физическая культура*. – 2014. – Т. 14, № 1. – С. 69-72.

25. Влияние липидов мембран на активность ферментов / Е.Б. Бурлакова, М.И. Джалябова, В.О. Гвахария [и др.] // Биантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. – М.: Наука, 1982. – Т. 57. – С. 113-140.
26. Влияние острой гипоксии на антиокислительную активность ткани печени у крыс с разной устойчивостью к гипоксии / О.Р. Грек, В.И. Шарапов, Е.В. Тихонова [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. XVIII, № 4. – С. 62-64.
27. Влияние различных режимов гипобарической гипоксии на экспрессию кортикостероидных рецепторов в гиппокампе крыс / М.О. Самойлов, А.В. Чурилова, Т.С. Глущенко, Е.А. Рыбникова // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2012. – Т. 98, № 11. – С. 1380-1395.
28. Влияние сукцинатсодержащих препаратов на структурные изменения в печени при остром экспериментальном холецистите / С.В. Якубовский, С.Л.Анищенко, А.А. Емельянова, Л.Д. Чайка // Архив патологии. – 2012. – № 6. – С. 28–32.
29. Влияние умеренной гипобарической гипоксии в режиме прекондиционирования на экспрессию транскрипционных факторов pCREB и NF-kB в гиппокампе мозга крыс до и после тяжелой гипоксии / А.В. Чурилова, Е.А. Рыбникова, Т.С. Глущенко [и др.] // Морфология. – 2009. – Т. 136, № 6. – С. 38-42.
30. Влияние церулоплазмина на динамику перекисного окисления липидов и активность антиоксидантной системы в ткани тимуса при гипокинетическом стрессе / Я.В. Латышин, В.И. Павлова, Ю.Г. Камскова, Д.А. Сарайкин // Человек. Спорт. Медицина. – 2014. – Т. 14, № 31. – С. 30-33.
31. Влияние повторных эпизодов однократного иммобилизационного стресса на активность ферментов метаболизма глюкокортикоидов в печени / Цейликман В.Э., Козочкин Д.А., Синицкий А.И. [и др.]. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 160, № 11. – С. 556-558.
32. Влияние энергокорректоров на кардиocereбральные взаимосвязи у пациентов, перенесших атеротромботический инсульт / В.В. Кузнецов, М.С. Егоров

- рова, Н.В. Коваль, А.В. Семенова // Журнал неврології ім. Б.М. Маньковского. – 2016. – Т. 4, №4. – С. 9-16.
33. Всероссийские клинические рекомендации по контролю над риском внезапной остановки сердца и внезапной сердечной смерти, профилактике и оказанию первой помощи / А.Ш. Ревшвили, Н.М. Неминуший, Р.Е. Баталов [и др.] // Вестник аритмологии. – 2017. – № 89. – С. 2-104.
34. Герасимова, О.Ю. Эпидемиология хронических болезней почек и организация медицинской помощи больным при хронической почечной недостаточности (обзор литературы) / О.Ю. Герасимова, Л.Н. Семченко, С.С. Ременец // Южно-Уральский медицинский журнал. – 2016. – № 4. – С. 4-9.
35. Гиляревский, С.Р. Роль антагонистов рецепторов альдостерона в профилактике и лечении сердечно-сосудистых и почечных заболеваний: реальность и перспективы / С.Р. Гиляревский, М.В. Голшмид, И.М. Кузьмина // РМЖ. – 2014. – Т. 22, № 23. – С. 1689-1698.
36. Гипоксическое preconditionирование, как новый подход к профилактике ишемических и реперфузионных повреждений головного мозга и сердца / Л.Н. Маслов, Ю.Б. Лишманов, Т.В. Емельянова [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2011. – Т. 17, № 3. – С. 27-36.
37. Глюкокортикоидзависимая регуляция ПОЛ в коре головного мозга при анксиогенном стрессе / Цейликман В.Э., Сеницкий А.И., Цейликман О.Б. [и др.]. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 159, № 6. – С. 701-703.
38. Грек, О.Р. Гипобарическая гипоксия и метаболизм ксенобиотиков / О.Р. Грек, А.В. Ефремов, В.И. Шарапов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 117 с.
39. Гринев, М.В. Ишемия-реперфузия – универсальный механизм патогенеза критических состояний в неотложной хирургии / М.В. Гринев, Б.Б. Бромберг // Вестник хирургии. – 2012. – Т. 171, № 4. – С. 94-100.
40. Грицюк, А.И. Неотложные состояния в клинике внутренних болезней / А.И. Грицюк. – Киев «Здоров'я», 1985. – 590 с.

41. Действие интервальной нормобарической гипоксии на кинетические свойства митохондриальных ферментов / Л.Д. Лукьянова, А.М. Дудченко, Т.А. Цыбина [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – № 12. – С. 644-651.
42. Держинский, Н.В. Соотношение свободнорадикального окисления липидов и белков, изменение содержания фосфолипидов у пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой / Н.В. Держинский, Е.И. Львовская // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2012. – № 2 (39). – С. 38-39.
43. Дизрегуляторная патология: руководство для врачей и биологов / под ред. Г.Н. Крыжановского. – М., 2002. – 632с.
44. Динамика процессов перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы в различных участках миокарда при его инфаркте у крыс с разной устойчивостью к гипоксии / А.Б. Саидов, Х.Я. Каримов, Н.М. Юлдашев, С.А. Саидов // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 33. – С. 33-35.
45. Долгих, В.Т. Метаболические нарушения при критических состояниях / В.Т. Долгих, А.И. Ларин, И.А. Пилипчук // Политравма. – 2007. – № 3. – С. 73-78.
46. Дубинина, Е.Е. Продукты метаболизма кислорода и функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты / Е.Е. Дубинина. – СПб.: Издательство Медицинская пресса, 2006. – 400 с.
47. Евтушенко, А.Я. Ранняя постреанимационная централизация кровообращения / А.Я. Евтушенко, А.И. Яковлев, Л.А. Шалякин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1985. – №3. – С. 284-286.
48. Ермакова, И.В. Современные представления о механизмах регуляции функции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы / И.В. Ермакова // Новые исследования. – 2014. – № 4 (41). – С. 77-86.

49. Жировое перерождение печени и ишемическая болезнь сердца. Гериатрические аспекты: монография / под ред. Л.П. Хорошиной. – М.: ООО «Концепт-дизайн», 2014. – 346 с.
50. Зарубина И.В. Молекулярные механизмы устойчивости к гипоксии / И.В. Зарубина // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 49-51.
51. Зарубина, И.В. Метаболическая коррекция полиорганной недостаточности в раннем периоде травматического токсикоза / И.В. Зарубина // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2012. – Т. 10, № 4. – С. 3-15.
52. Зарубина, И.В. Современные представления о патогенезе гипоксии и ее фармакологической коррекции / И.В. Зарубина // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2011. – Т. 9, № 3. – С. 31-48.
53. Зарубина, И.В. Функционально-метаболические нарушения в головном мозге при хронической ишемии и их коррекция нейропептидами / И.В. Зарубина, Т.В. Павлова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 20-33.
54. Зыблев, С.Л. Состояние метаболизма при экспериментальной острой кровопотере в зависимости от проводимой терапии / С.Л. Зыблев, З.А. Дундаров // Новости хирургии. – 2013. – Т. 21, № 5. – С. 3-10.
55. Иванов, К.П. Гипоксия мозга и гибель нейронов вследствие нарушения микроциркуляции в мозге и регионального мозгового кровообращения / К.П. Иванов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2010. – Т. 9, № 2. – С. 5-17.
56. Идрисова, Л.Т. Балльная оценка неврологического статуса крыс при алкогольной коме и влияние на нее лазерной физиогемотерапии / Л.Т. Идрисова, Д.А. Еникеев, Г.А. Байбурина // Клиническая медицина и патофизиология. – 1999. – № 2. – С. 75-79.
57. Изменения гормонально-метаболических показателей плазмы крови крыс в остром периоде после общей управляемой гипертермии как проявление

- синдрома гиперметаболизма / А.В. Ефремов, Ю.В. Пахомова, С.В. Мичурина, Е.А. Пахомов // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 84-89.
58. Изменения эндокринно-метаболических профилей плазмы крови крыс в остром периоде после общей управляемой гипертермии, как проявления синдрома системного воспалительного ответа животного на экстремальное воздействие / А.В. Ефремов, Ю.В. Пахомова, А.Е. Масютенко [и др.] // Медицина и образование в Сибири. – 2015. – № 3. – С. 96.
59. Итоги фундаментальных и прикладных исследований по актуальным проблемам медицины критических состояний / В.Т. Долгих, О.В. Корпачева, В.Н. Лукач [и др.]. // Омский научный вестник. – 2015. – № 144. – С. 14-18.
60. К вопросу о механизме формирования различий в естественной резистентности крыс к острой гипоксической гипоксии / В.А. Березовский, О.А. Бойко, Л.А. Курбаков, Т.Н. Гридина // Физиологический журнал. – 1985. – Т. 31, № 3. – С. 257-262.
61. Калуев, А.В. Роль ГАМК в патогенезе тревоги и депрессии – нейрогенетика, нейрохимия и нейрофизиология / А.В. Калуев // Нейронауки. – 2006. – Т. 2, № 4. – С. 29-41.
62. Капитонов, В.М. «Окислительный стресс» и его коррекция у больных с тяжелой сочетанной травмой / В.М. Капитонов, Д.А. Остапченко // Общая реаниматология. – 2010. – Т. VI, № 4. – С. 70-75.
63. Кириллов, В.В. Догоспитальная летальность пациентов с ишемической болезнью сердца при острых коронарных синдромах / В.В. Кириллов // Доктор.Ру. – 2016. – № 2 (119). – С. 27-33.
64. Кислородтранспортная способность гемоглобина при хирургическом эндотоксикозе / Порядин Г.В., Власов А.П., Трофимов В.А., Власова Т.И. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2016. – № 1. – С. 23-27.

65. Коваленко, Н.Я. Индивидуальная устойчивость сердечно-сосудистой системы к острой кровопотере / Н.Я. Коваленко, Д.Д. Мациевский, Ю.В. Архипенко // Анестезиология и реаниматология. – 1999. – № 1. – С. 51–54.
66. Козлов, В.К. Введение в системную медицину: общие вопросы и методология, аспекты диагностики, профилактики и лечения. Руководство для врачей / В.К. Козлов, С.В. Ярилов; под общ. ред. В.К. Козлова и В.Г. Радченко. – СПб.: Санкт-Петербургская академия им. И.И. Мечникова, 2010. – 550 с.
67. Кольман, Я. Наглядная биохимия: пер. с нем. / Я. Кольман, К.-Г. Рём. – 3-е изд. – М: Мир; БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. – 469 с.
68. Коняева, Т.П. Функционально морфологические изменения тонкой кишки в раннем постреанимационном периоде / Т.П. Коняева, В.Т. Долгих, С.Н. Еломенко // Бюллетень сибирской медицины. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 5-13.
69. Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.
70. Корпачев, В.Г. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс / В.Г. Корпачев, С.П. Лысенков, Л.З. Телль // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1982. – № 3. – С. 78-80.
71. Коррекция свободно-радикального окисления в терапии цереброваскулярных расстройств / А.Ю. Казаков, Г.С. Сальникова, Н.А. Михайлова, П.Р. Камчатнов // Трудный пациент. – 2012. – Т. 10, № 4. – С. 28-32.
72. Краснов, А.В. Астроцитарные белки головного мозга: структура, функции, клиническое значение / А.В. Краснов // Неврологический журнал. – 2012. – № 1. – С. 37-42.
73. Крыжановский, Г.Н. Патологические интеграции в центральной нервной системе / Г.Н. Крыжановский // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – № 3. – С. 244-247.
74. Ксейко, Д.А. Процессы перекисного окисления липидов и защитная роль антиоксидантной системы в печени и эритроцитах в условиях острой крово-

- потери / Д.А. Ксейко, Т.П. Генинг // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 9-2. – С. 304–307.
75. Кукес, В.Г. Эффективность метаболических корректоров при экспериментальной ишемии миокарда / В.Г. Кукес, Т.В. Горбач, О.В. Ромащенко // Клиническая фармакология и терапия. – 2015. – Т. 24, № 5. – С. 86-88.
76. Кулинский, В.И. Две адаптационные стратегии в неблагоприятных условиях - резистентная и толерантная. Роль гормонов и рецепторов / В.И. Кулинский, И.А. Ольховский // Успехи современной биологии. – 1992. – Вып. 5-6. – С. 697-714.
77. Ландышев, Ю.С. Механизмы действия и основные терапевтические эффекты глюкокортикоидов / Ю.С. Ландышев // Амурский медицинский журнал. – 2014. – № 1(5). – С. 10-29.
78. Лебедь, М.Л. Выбор стратегии адаптации как механизм оптимизации лечебного процесса / М.Л. Лебедь, С.Н. Бочаров // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – № 6. – С. 18-20.
79. Лебедь, М.Л. Определение типа стратегии адаптации как способ оценки эффективности интенсивной терапии / М.Л. Лебедь, С.Н. Бочаров // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 5(93). – С. 49-52.
80. Лемза, С.В. Сравнительный анализ растительного средства «Нефрофит» и «Цитофлавина» при экспериментальной ишемии-реперфузии почек / С.В. Лемза, А.В. Федорова // Sciences of Europe. – 2016. – № 3 (3). – С. 23-26.
81. Лесиовская, Е.Е. Антигипоксанта́ны прямого действия – перспективные нейропротекторы / Е.Е. Лесиовская // Terra Medica. – 2012. – № 4. – С. 49-57.
82. Лукьянова, Л.Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции / Л.Д. Лукьянова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1997. – Т. 124, № 9. – С. 244-254.
83. Лукьянова, Л.Д. Современные проблемы гипоксии / Л.Д. Лукьянова // Вестник Российской Академии медицинских наук. – 2000. – № 9. – С. 3-12.

84. Лукьянова, Л.Д. Дизрегуляция аэробного энергетического обмена – типовой патологический процесс / Л.Д. Лукьянова // Дизрегуляторная патология / под ред. Г.Н. Крыжановского. – М.: Медицина, 2002. – С. 188-215.
85. Лукьянова, Л.Д. О корреляции между особенностями работы дыхательной цепи у животных с различной резистентностью к гипоксии и их функционально-метаболическим портретом / Л.Д. Лукьянова // Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты / под ред. Л.Д. Лукьяновой, И.Б. Ушакова. – М., 2004. – С. 184-203.
86. Лукьянова, Л.Д. Фармакологическая коррекция митохондриальной дисфункции при гипоксии / Л.Д. Лукьянова // Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты / под ред. Л.Д. Лукьяновой, И.Б. Ушакова. – М., 2004. – С. 456.
87. Лукьянова, Л.Д. Функционально-метаболические особенности животных с различной индивидуальной резистентностью к гипоксии / Л.Д. Лукьянова // Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты / под ред. Л.Д. Лукьяновой, И.Б. Ушакова. – М., 2004. – С. 156-169.
88. Лукьянова, Л.Д. Сигнальная функция митохондрий при гипоксии и адаптации / Л.Д. Лукьянова // Патогенез. – 2008. – Т. 6, № 3. – С. 4–12.
89. Лукьянова, Л.Д. Влияние гипоксического прекондиционирования на свободнорадикальные процессы в тканях крыс с различной толерантностью к гипоксии / Л.Д. Лукьянова, Ю.И. Кирова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – Т. 151, № 3. – С. 263-268.
90. Лысенков, С.П. Балльная оценка общего состояния крыс, перенесших клиническую смерть / С.П. Лысенков, В.Г. Корпачев, Л.З. Тель // Клиника, патогенез и лечение неотложных состояний. – Новосибирск, 1982. – С. 8-13.
91. Макаренко, А.Н. Адаптация к гипоксии как защитный механизм при патологических состояниях / А.Н. Макаренко, Ю.К. Карандеева // Вестник проблем биологии и медицины. – 2013. – Т. 1, № 2. – С. 27-32.
92. Маслюкова, А.В. Биохимические маркеры перенесенного острого нарушения мозгового кровообращения / А.В. Маслюкова, И.К. Томилова, Е.А. Ба-

- клушина // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2015. – Т. 20, № 1. – С. 37-44.
93. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике: в 2 т. / под ред. А.И. Каркищенко. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – Т. 2. – 792 с.
 94. Меерсон, Ф.З. Адаптация к стрессу и гипоксия / Ф.З. Меерсон // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1994. – № 1. – С. 574–575.
 95. Межлинейные различия чувствительности к острой гипобарической гипоксии у инбредных мышей коллекционного фонда / Х.Х. Семенов, Н.Н. Каркищенко, Л.Х. Казакова [и др.] // Биомедицина. – 2013. – № 1. – С. 78-88.
 96. Меркулов, В.М. Рецептор глюкокортикоидов: переход из цитоплазмы в клеточное ядро, хроматиновый и внутриядерный шапероновый циклы / В.М. Меркулов, Н.В. Климова, Т.И. Меркулова // Молекулярные механизмы генетических процессов. – 2015. – Т. 19, № 3. – С. 255-263.
 97. Метаболические перестройки в печени при эндогенной интоксикации / Власов А.П., Камкина О.В., Трофимов В.А. [и др.]. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 80, № 3. – С. 40-44.
 98. Методы биохимических исследований / под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – 272 с.
 99. Механизмы формирования острой экзогенной гипоксии и возможности ее фармакологической коррекции антигипоксантами / Д.В. Сосин, О.Е. Шалаева, А.В. Евсеев, П.Д. Шабанов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2015. – Т. 13, № 1. – С. 3-24.
 100. Михеев, В.В. Межполушарная асимметрия устойчивости к гипоксии самцов мышей линии SHR / В.В. Михеев, В.В. Марышева, П.Д. Шабанов // Асимметрия. – 2010. – Т. 4, № 1. – С. 3-11.
 101. Мишина, Т.П. Перспективы повышения качества сердечно-легочной реанимации на догоспитальном этапе / Т.П. Мишина, В.Е. Марусанов // Скорая медицинская помощь. – 2016. – Т. 17, № 1. – С. 41-49.

- 102.Молекулярные механизмы развития и адресная терапия синдрома ишемии-реперфузии / О.А. Гребенчиков, В.В. Лихванцев, Е.Ю. Плотников [и др.] // Анестезиология и реаниматология. – 2014. – № 3. – С. 59-67.
- 103.Морозов, С.В. Защитно-компенсаторные механизмы органов детоксикации при экспериментальном остром панкреатите / С.В. Морозов, А.И. Лобаков, В.Т. Долгих // Сибирский медицинский журнал. – 2015. – № 6. – С. 104-109.
- 104.Неговский, В.А. Теоретические и клинические проблемы реаниматологии / В.А. Неговский, В.В. Мороз //Анестезиология и реаниматология. – 2000. – Т. 6. – С. 4-6.
- 105.Нейропротекторные эффекты кортексина у крыс с различной устойчивостью к гипоксии при хронической ишемии головного мозга / Т.В. Павлова, И.В. Зарубина, М.В. Лукк, П.Д. Шабанов // Психофармакология и биологическая наркология. – 2008. – Т. 8, вып. 1-2, ч. 1. – С. 12248-54.
- 106.Нейропротекция при цереброваскулярных заболеваниях: поиск жизни на Марсе или перспективное направление лечения? Часть 2. Хронические формы нарушений мозгового кровообращения / М.А. Пирадов, М.М. Танашян, М.А. Домашенко, М.Ю. Максимова // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2015. – Т. 9, № 3. – С. 10-19.
107. Новиков, В.Е. Влияние антигипоксанта Q226 на поведение мышей в «открытом поле» / В.Е. Новиков, М.В. Арбаева, Э.А. Парфенов // Психофармакология и биологическая наркология. – 2005. – Т. 5, № 3. – С. 979-983.
- 108.Новый способ определения типа стратегии адаптации в эксперименте / С.Н. Бочаров, М.Л. Лебедь, М.Г. Кирпиченко, В.В. Гуманенко // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 4 (86), ч. 2. – С. 170-174.
- 109.Нургалеева, Е.А. Патогенетические аспекты раннего и позднего эндотоксикоза в постреанимационном периоде (экспериментальное исследование): автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.03.03 / Нургалеева Елена Александровна. – М., 2013. – 50 с.
- 110.Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) / Е.Е. Дубинина, М.Г. Моро-

- зова, Н.В. Леонова [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 2000. – Т. 46, № 4. – С. 398-409.
- 111.Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов, И.Г. Поротов // Вопросы медицинской химии. – 1995. – Т. 41, № 1. – С. 24-26.
- 112.Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков [и др.]. – М.: «Слово», 2006. – 556 с.
- 113.Оптимизация процесса репарации тканей при использовании Ремаксолола / Власов А.П., Зайцев П.П., Власов П.П. [и др.]. // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2017. – № 4. – С. 51-55.
- 114.Орлов, Ю.П. Энергетический дефицит при критических состояниях: значение сукцинатов / Ю.П. Орлов // Медицина неотложных состояний. – 2016. – № 7 (78). – С. 124-131.
- 115.Орловский, М.А. Аллельный полиморфизм рецептора глюкокортикоидных гормонов NR3C1 (GR): от молекулярной биологии к клинике / М.А. Орловский // Biopolimers and cell. – 2012. – Vol. 28, № 5. – P. 338-351.
- 116.Особенности оксидативного стресса и содержание кортизола в пуповинной крови при нарушениях адаптации новорожденных / Колесникова Л.И., Попова А.С., Крупицкая Л.И., Сеницкий А.И. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2015. – Т.14, № 3. – С. 62-65.
- 117.Охремчук, Л.В. Особенности поведения беспородных крыс при острой интоксикации аминазином и ее коррекция фенотропилом / Л.В. Охремчук, И.Ж. Семинский // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – № 4. – С. 57-59.
- 118.Оценка закономерностей гомеостаза системы гемопозза при хроническом радиационном воздействии / Д.З. Шибкова, О.Г. Андреева, В.Л. Шведов, А.В. Аксеев // Проблемы радиоэкологии и пограничных дисциплин. – За- речный, 2000. – С. 234-277.
- 119.Панин, Л.Е. Тревожность, адаптация, донозологическая диспансеризация / Л.Е. Панин, Г.А. Усенко. – Новосибирск, 2004. – 316 с.

- 120.Патофизиологические аспекты гипероксии в практике анестезиолога реаниматолога (мини-обзор) / В.Т. Долгих, Н.В. Говорова, Ю.П. Орлов [и др.]. // Общая реаниматология. – 2017. – Т. 13, № 3. – С. 83-93.
- 121.Показатели прооксидантно-антиоксидантного статуса печени крыс при формировании эндотоксикоза постреанимационного периода / Е.А. Нургалеева, Д.А. Еникеев, Л.В. Нагаева [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2011. – Т. 6, № 2. – С. 230-232.
- 122.Половые различия в про- и антиоксидантной системах головного мозга в отдаленном постреанимационном периоде / А.Г. Жукова, Т.Г. Сазонтова, Ю.В. Архипенко, А.В. Волков // Общая реаниматология. – 2010. – Т. VI, № 4. – С. 54–57.
- 123.Пороховник, Л.Н. Связь аллельных вариантов гена NFE2L2 транскрипционного фактора NRF2 с патогенезом многофакторных заболеваний / Л.Н. Пороховник, В.М. Писарев // Генетика. – 2017. – Т. 53, № 8. – С. 895-910.
- 124.Постгипоксическая реакция астроглиальных клеток зрительной коры в эксперименте / Г.А. Дроздова, А.Ф. Самигуллина, Е.А. Нургалеева [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2017. – Т. 98, № 6. – С. 984-988.
- 125.Прогностическое значение параметров свободнорадикального окисления при черепно-мозговой травме / Е.И. Львовская, Н.В. Держинский, В.А. Садова, Д.Б. Сумная // Биомедицинская химия. – 2016. – Т. 62, № 1. – С. 107-111.
- 126.Пшенникова, М.Г. Врожденная эффективность стресс-лимитирующих систем как фактор устойчивости к стрессорным повреждениям / М.Г. Пшенникова // Успехи физиологических наук. – 2003. – Т. 34, № 3. – С. 55-67.
- 127.Ренин-ангиотензин-альдостероновая система и репликативное клеточное старение: их взаимодействие в ходе старения сосудов / В.С. Пыхтина, И.Д. Стражеско, М.В. Агальцов, О.Н. Ткачева // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2014. – Т. 10, № 3. – С. 312-316.
- 128.Роль окислительного стресса в формировании кардиодепрессии при тяжелой изолированной черепно-мозговой травме (экспериментальное исследо-

- вание) / В.В. Русаков, В.Т. Долгих, В.И. Чесноков, Н.Н. Солодников // Общая реаниматология. – 2009. – Т., № 1. – С. 48-53.
129. Роль органного липидного дистресс-синдрома в прогрессировании эндогенной интоксикации / Власова Т.И., Власов А.П., Трофимов В.А., Лещанкина Н.Ю. // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10. – С. 123-128.
130. Роль структурных и метаболических нарушений печени крыс в механизмах формирования эндотоксикоза после перенесенной смертельной кровопотери / Е.А. Нургалеева, Д.А. Еникеев, О.В. Лаптев, Л.В. Нагаева // Медицинская наука и образование Урала. – 2011. – Т. 12, № 2. – С. 92-94.
131. Роль эндотоксикоза постреанимационного периода, цитокинового профиля, уровня гликозаминогликанов в механизмах повреждения легочной ткани / Е.А. Нургалеева, Д.А. Еникеев, Е.Р. Фаршатова [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2012. – Т. 7, № 3. – С. 90-94.
132. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К., 2013. – Ч. 1. – 944 с.
133. Русаков, В.В. Влияние тяжелой черепно-мозговой травмы на сократимость и метаболизм сердец крыс с разной устойчивостью к гипоксии / В.В. Русаков // Медицина в Кузбассе. – 2011. – № 1. – С. 40-44.
134. Рябов, Г.А. Гипоксия критических состояний / Г.А. Рябов. – М.: Медицина, 1988. – 224 с.
135. Сазонтова, Т.Г. Оценка резистентности ткани печени и мозга к свободнорадикальным процессам и уровень ферментов антиоксидантной защиты у животных с различной устойчивостью к гипоксии / Т.Г. Сазонтова, Ю.В. Архипенко, Л.Д. Лукьянова // Первый Российский конгресс по патофизиологии. – М., 1996. – С. 126.
136. Самойлов, М.О. Молекулярно-клеточные и гормональные механизмы индуцированной толерантности мозга к экстремальным факторам среды / М.О. Самойлов, Е.А. Рыбникова // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2012. – Т. 98, № 1. – С. 108-126.

137. Саноцкая, Н.В. Изменения гемодинамики и дыхания крыс с разной устойчивостью к острой гипоксии / Н.В. Саноцкая, Д.Д. Мациевский, М.А. Лебедева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2004. – Т. 138, № 7. – С. 24-28.
138. Связь между нейроэндокринной дисфункцией и свободнорадикальным окислением при алкоголизме позднего возраста / Виноградов Д.Б., Мингазов А.Х., Изаровская И.В., Синицкий А.И. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2015. – Т. 115, № 8. – С. 73-75.
139. Селье, Г. Стресс без дистресса / Г. Селье. – М., 1979. – 183 с.
140. Семенов, Х.Х. Новые оппозитные линии крыс как модель индивидуальной чувствительности к острой гипобарической гипоксии / Х.Х. Семенов, В.Н. Каркищенко, Е.Л. Матвеев // Биомедицина. – 2011. – № 32. – С. 46-49.
141. Слоним, А.Д. Эволюция терморегуляции / А.Д. Слоним. – Л.: Наука. Ленинградское отделение, 1986. – 76 с.
142. Соотношение между уровнем поведенческой активности, концентрацией циркулирующего кортикостерона у крыс с различной устойчивостью к гипоксии / О.В. Кузина, О.Б. Цейликман, М.С. Лапшин [и др.] // Вестник ЮУрГУ. Сер. Образование, здравоохранение, физическая культура. – 2014. – Т. 14, № 4. – С. 54-58.
143. Соотношение между цитокиновой активностью крови и уровнем монооксигеназной активности в печени при стрессорных воздействиях, сопровождающихся повышенной устойчивостью к гипоксии / О.Б. Цейликман, В.Э. Цейликман, С.В. Сибиряк [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, № 3. – С. 26-29.
144. Сосновский, Е.А. Биохимические маркеры черепно-мозговой травмы / Е.А. Сосновский, Ю.В. Пукас, А.Э. Талыпов // Нейрохирургия. – 2014. – № 2. – С. 83-91.
145. Способ определения степени устойчивости к гипобарической гипоксии мелких лабораторных животных: пат. 2563059 Рос. Федерация, МПК G09B

- 23/28 / Г.А. Байбурина, Е.А. Нургалеева, Д.З. Шибкова [и др.]. – № 20141377/14; заявл. 17.09.2014; опубл. 20.09.2015. Бюл. № 26.
146. Сравнительная оценка показателей перекисного окисления липидов сердца, печени и мозга крыс с различной устойчивостью к гипоксии / М.Л. Хачатурян, В.М. Гукасов, П.Г. Комаров [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1996. – № 2. – С. 138-143.
147. Старинская, М.А. Нозологическая структура смертности и потерянных лет жизни от болезней системы кровообращения в экономически активном возрасте / М.А. Старинская, И.В. Самородская, А.В. Масякин // Медицинские технологии. Оценка и выбор. – 2017. – Т. 27, № 1. – С. 23-34.
148. Стресс, кортикостероидные повреждения гиппокампа и нервно-психическая патология / А.А. Должиков, И.И. Бобынцев, А.Е. Белых, И.Н. Должикова // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2017. – № 2. – С. 98-105.
149. Структурно-функциональное состояние пирамидных нейронов коры большого мозга человека в постреанимационном периоде / В.А. Акулинин, А.В. Мыщик, С.С. Степанов [и др.]. // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: биология, клиническая медицина. – 2012. – Т. 10, № 4. – С. 21-28.
150. Сукач, М.С. Влияние цитофлавина на функционально-метаболические показатели печени крыс при панкреонекрозе / М.С. Сукач, В.Т. Долгих // Бюллетень сибирской медицины. – 2012. – № 1. – С. 77-82.
151. Тимофеев, Н.Н. Гипобиоз и криобиз: прошлое, настоящее и будущее / Н.Н. Тимофеев. – М.: Информ-Знание, 2005. – 255 с.
152. Умрюхин, А.Е. Нейромедиаторные гиппокампальные механизмы стрессорного поведения и реакций избегания / А.Е. Умрюхин // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2013. – № 1.
153. Уракова, М.А. Фосфолипиды крови, легких и ткани мозга при экспериментальном ишемическом инсульте / М.А. Уракова, И.Г. Брындина, П.Н. Герасимов [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2013. – № 1.

- симов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014. – Т. 9, № 5. – С. 49-51.
154. Уракова, М.А. Сурфактант и водный баланс легких при экспериментальном внутримозговом кровоизлиянии и ишемии головного мозга / М.А. Уракова, И.Г. Брындына // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2014. – № 2. – С. 187-189.
155. Физиологическое обоснование требований к лабораторным моделям для оптимизации параметров скрининга антигипоксической активности с использованием критериев резистентности к экстремальной гипоксической гипоксии / Е.Б. Шустов, Н.Н. Каркищенко, В.Н. Каркищенко [и др.] // Биомедицина. – 2013. – № 4. – С. 29-45.
156. Фомина, М.А. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях: методические рекомендации / М.А. Фомина, Ю.В. Абаленихина. – Рязань: РИОРязГМУ, 2014.
157. Хаитов, Р.М. Руководство по клинической иммунологии / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, А.А. Ярилин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 352 с.
158. Хохлов, А.Л. Антагонисты минералокортикоидных рецепторов при инфаркте миокарда: фокус на эплеренон / А.Л. Хохлов, Ю.В. Рыбачкова // Терапия. – 2016. – Т. 4, № 8. – С. 84–90.
159. Хочачка, П. Биохимическая адаптация / П. Хочачка, Дж. Сомеро. – М.: Мир, 1988. – 568 с.
160. Храпов, Ю.В. Роль биомаркеров повреждения вещества головного мозга в диагностике, оценке эффективности лечения и прогнозировании исходов тяжелой черепно-мозговой травмы / Ю.В. Храпов, С.В. Поройский // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2013. – № 2. – С. 10-20.
161. Цыган, Н.В. Повреждение головного мозга и нейротрофические механизмы его защиты на модели острой церебральной гипоксии / Н.В. Цыган, А.П. Трашков // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2013. – № 3 (43). – С. 102-110.

162. Черешнев, В.А. Патофизиология / В.А. Черешнев, Б.Г. Юшков // М.: Центр стратегического партнерства, 2014. – 836 с.
163. Черкасова, О.П. Активность 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы в тканях крыс при хроническом гранулематозном воспалении / О.П. Черкасова, В.Г. Селятицкая, Н.А. Пальчикова // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 5. – С. 152-155.
164. Черных, А.А. Метаболизм ароматических аминокислот при выраженной острой кратковременной экспериментальной нормобарической гипоксии у человека / А.А. Черных // Экология человека. – 2013. – № 7. – С. 59-64.
165. Чеснокова, Н.П. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 7. – С. 29-36.
166. Чурилова, А.В. Изменение экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 в неокортексе и гиппокампе у крыс под влиянием различных режимов гипобарической гипоксии / А.В. Чурилова, Т.С. Глущенко, М.О. Самойлов // Морфология. – 2014. – Т. 146, № 35. – С. 7-13.
167. Шибкова, Д.З. О механизмах развития гипоплазии лимфоидной ткани при ежедневных иммобилизациях / Д.З. Шибкова, О.Б. Цейликман, И.И. Григорьев // Вестник Челябинского государственного педагогического университета. – 2006. – № 5. – С. 257-264.
168. Шишкина, Г.Т. Глюкортикоидная гипотеза депрессии: история и перспективы / Г.Т. Шишкина, Н.Н. Дыгало // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2016. – Т. 20, № 2. – С. 198-203.
169. Шугаев, А.И. Острые нарушения артериального мезентериального кровообращения / А.И. Шугаев, А.В. Вовк // Вестник хирургии. – 2005. – Т. 164, № 4. – С. 112-115.
170. Шустов, Е.Б. Экс-орфанные рецепторы как мишени для потенциальных лекарственных средств / Е.Б. Шустов, С.В. Оковитый // Биомедицина. – 2015. – № 2. – С. 15-29.

171. Ырысов, К.Б. Особенности ведения послеоперационного периода при травматическом сдавлении головного мозга / К.Б. Ырысов, А.Ы. Муратов // Нейрохирургия и неврология Казахстана. – 2015. – № 4 (41). – С. 22-25.
172. Экологическая физиология животных / А.Д. Слоним, Г.И. Ибрагимова, В.А. Исабаева [и др.]. – Л.: Наука, Ленинградское отделение, 1979. – 440 с.
173. Экспериментальное изучение системного воспалительного ответа в постренинговом периоде в механизмах повреждения легочной ткани / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалеева, Г.А. Байбурина, М.А. Александров // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. – 2012. – № 2. – С. 185-193.
174. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптационных реакций организма / И.А. Волчегорский, И.И. Долгушин, О.Л. Колесников, В.Э. Цейликман. – Челябинск, 2000. – 167 с.
175. Эндогенная интоксикация в патогенезе нефропатий / Э.А. Юрьева, В.С. Сухоруков, Е.С. Воздвиженская [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – № 3. – С. 22-25.
176. Эффективность толерантной (пассивной) адаптации в условиях экспериментальной политравмы / М.Л. Лебедь, М.Г. Кирпиченко, С.Н. Бочаров, В.В. Гуманенко // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 2 (90), ч. 2. – С. 14-150.
177. Юшков, Б.Г. Понятие нормы в физиологии (физиологические константы лабораторных животных) / Б.Г. Юшков, В.А. Черешнев // Екатеринбург, 2016. – 616 с.
178. 11beta-HSD1 is the major regulator of the tissuespecific effects of circulating glucocorticoid excess / S.A. Morgan, E.L. McCabe, L.L. Gathercole [et al.] // PNAS. – 2014. – Vol. 111. – P. E2482–E2491. doi:10.1073/pnas.1323681111
179. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of glucocorticoid response / J.W. Tomlinson, E.A. Walker, I.J. Bujalska [et al.] // Endocr. Rev. – 2004. – Vol. 25. – P. 831-866.

180. Acrolein induces a cellular stress response and triggers mitochondrial apoptosis in A549 cells / J. Roy, P. Pallepati, A. Bettaieb [et al.] // *Chem. Biol. Interact.* – 2009. – Vol. 181, № 2. – P. 154-167.
181. Activation of the Glucocorticoid Receptor in Acute Inflammation: the SEDI-GRAM Concept / K. De Bosscher, I.M. Beck, D. Ratman [et al.] // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2016. – Vol. 37, № 1. – P. 4–16. doi: 10.1016/j.tips.2015.09.002 [PubMed]
182. Acute kidney injury: arterial spin labeling to monitor renal perfusion impairment in mice-comparison with histopathologic results and renal function / K. Hueper, M. Gutberlet, S. Rong [et al.] // *Radiology.* – 2014. – Vol. 270, № 1. – P. 117-124.
183. Adenosine modulates ERK1/2, PI3K/Akt, and p38MAPK activation in the brain of the anoxia-tolerant turtle *Trachemys scripta* / S.L. Milton, L.J. Dirk, L.F. Kara, H.M. Prentice // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2008. – Vol. 28. – P. 1469-1477.
184. Adibhatla, R.M. Lipid oxidation and peroxidation in CNS health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities / R.M. Adibhatla, J.F. Hatcher // *Antioxid Redox Signal.* – 2010. – Vol. 12. – P. 125-169.
185. Administration of dexamethasone protects mice against ischemia/reperfusion induced renal injury by suppressing PI3K/AKT signaling / J. Zhang, Y. Yao, F. Xiao [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2013. – Vol. 6, № 11. – P. 2366-2375.
186. Administration of the Nrf2-ARE activators sulforaphane and carnosic acid attenuates 4-hydroxy-2-nonenal-induced mitochondrial dysfunction ex vivo / D.M. Miller, I.N. Singh, J.A. Wang, E.D. Hall // *Free Rad. Biol. Med.* – 2013. – Vol. 57. – P. 1-9.
187. Ahmadias, N. Combination Antioxidant Effect of Erythropoietin and Melatonin on Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats / N. Ahmadias, S. Banaei, A. Alihemmati // *Iran J. Basic Med. Sci.* – 2013. – Vol. 16, № 12. – P. 1209-1216.
188. Aldosterone inactivates the endothelin-B receptor via a cysteinyl thiol redox switch to decrease pulmonary endothelial nitric oxide levels and modulate pul-

- monary arterial hypertension / B.A. Maron, Y.Y. Zhang, K. White [et al.] // *Circulation*. – 2012. – Vol. 126, № 8. – P. 963-974.
189. Aldosterone induces fibrosis, oxidative stress and DNA damage in livers of male rats independent of blood pressure changes / N. Queisser, K. Happ, S. Link [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 280, № 3. – P. 399-407.
190. Aldosterone regulates vascular gene transcription via oxidative stress-dependent and -independent pathways / B.G. Newfell, L.K. Iyer, N.N. Mohammad [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2011. – Vol. 31, № 8. – P. 1871-1880.
191. Anilkumar, U. Anti-apoptotic BCL-2 family proteins in acute neural injury / U. Anilkumar, J.H.M. Prehn // *Front. Cell Neurosci.* – 2014. – № 8. – P. 281.
192. Aoki, T. Prostaglandins and chronic inflammation / T. Aoki, S. Narumiya // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2012. – Vol. 33, № 6. – P. 304-311.
193. Association of complete recovery from acute kidney injury with incident CKD stage 3 and all-cause mortality / J. Jones, J. Holmen, G.J. De [et al.] // *Am. J. Kidney Dis.* – 2012. – Vol. 60, № 3. – P. 402-408.
194. Astrocytes protect neurons from nitric oxide toxicity by glutathione-dependent mechanism / Y. Chen, N.E. Vartiainen, W. Ying [et al.] // *J. Neurochem.* – 2001. – Vol. 77, № 7. – P. 1601-1610.
195. Ayala, A. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal / A. Ayala, M.F. Muñoz, S. Argüelles // *Oxid. Med. Cell. Longevity*. – 2014. – Vol. 2014, Article ID 360438, 31 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/360438>
196. Balancing mitochondrial redox signaling: a key point in metabolic regulation / C. Leloup, L. Casteilla, A. Carrière [et al.] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2011. – Vol. 14, № 3. – P. 519-530.
197. Baumann, J. Lipid biology of breast cancer / J. Baumann, C. Sevinsky, D.S. Conklin // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2013. – Vol. 1831, № 10. – P. 1509–1517.
198. BCL-2 protects human and mouse Th17 cells from glucocorticoid-induced apoptosis / J. Banuelos, S. Shin¹, Y. Cao [et al.] // *Allergy*. – 2016. – Vol. 71, № 5. – P. 640-650. doi:10.1111/all.12840.

199. Beneficial effects of mineralocorticoid receptor blockade in experimental non-alcoholic steatohepatitis / M. Pizarro, N. Solís, P. Quintero [et al.] // *Liver Int.* – 2015. – Vol. 35, № 9. – P. 2129-38. doi: 10.1111/liv.12794.
200. Berberine protects human renal proximal tubular cells from hypoxia/reoxygenation injury via inhibiting endoplasmic reticulum and mitochondrial stress pathways / W. Yu, M. Sheng, R. Xu [et al.] // *J. Transl. Med.* – 2013. – № 11. – P. 24.
201. Blockade of mineralocorticoid receptor reverses adipocyte dysfunction and insulin resistance in obese mice / A. Hirata, N. Maeda, A. Hiuge [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2009. – Vol. 84, № 1. – P. 164-172.
202. Blocking the anoxic depolarization protects without functional compromise following simulated stroke in cortical brain slices / T.R. Anderson, C.R. Jarvis, A.J. Biedermann [et al.] // *J. Neurophysiol.* – 2005. – Vol. 93, № 2. – P. 963-979.
203. Blunted neuronal calcium response to hypoxia in naked mole-rat hippocampus / B.L. Peterson, J. Larson, R. Buffenstein [et al.] // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7, № 2. – P. e31568. doi: 10.1371/journal.pone.0031568.
204. Brief treatment with the glucocorticoid receptor antagonist mifepristone normalises the corticosterone-induced reduction of adult hippocampal neurogenesis / J.L. Mayer, L. Klumpers, S. Maslam [et al.] // *J. Neuroendocrinol.* – 2006. – Vol. 18, № 8. – P. 629-631.
205. Buttgereit, F. Novel glucocorticoids: where are we now and where do we want to go? / F. Buttgereit, C.M. Spies, J.W. Bijlsma // *Clin. Exp. Rheumatol.* – 2015. – Vol. 33. – P. S29-S33. Available online at: <http://www.clinexprheumatol.org/abstract.asp?a=9905>
206. Cardiac GR and MR: from development to pathology / R.V. Richardson, E.J. Batchen, M.A. Denvir [et al.] // *Trends Endocrinol. Metab.* – 2016. – Vol. 27, №1. – P. 35–43. doi:10.1016/j.tem.2015.10.001.
207. Cardiogenic genes expressed in cardiac fibroblasts contribute to heart development and repair / M.B. Furtado, M.W. Costa, E.A. Pranoto [et al.] // *Circ. Res.* – 2014. – Vol. 114, № 9. – P. 1422-1434.

208. Cardiomyocyte and vascular smooth muscle-independent 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 amplifies infarct expansion, hypertrophy, and the development of heart failure after myocardial infarction in male mice / C.I. White, M.A. Jansen, K. McGregor [et al.] // *Endocrinology*. – 2016. – Vol. 157, № 1. – P. 346-357. doi:10.1210/en.2015-1630
209. Chapman, K. 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenases: intracellular gate-keepers of tissue glucocorticoid action / K. Chapman, M. Holmes, J. Seckl // *Physiol. Rev.* – 2013. – Vol. 93, № 3. – P. 1139-1206. doi:10.1152/physrev.00020.2012.
210. Characterization of a complex glucocorticoid response unit in the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene / E. Imai, P.E. Stromstedt, P.G. Quinn [et al.] // *Mol. Cell. Biol.* – 1990. – Vol. 10, № 9. – P. 4712-4719.
211. Chien, C.Y. Progressive thermopreconditioning attenuates rat cardiac ischemia/reperfusion injury by mitochondria-mediated antioxidant and antiapoptotic mechanisms / C.Y. Chien, C.T. Chien, S.S. Wang // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2014. – Vol. 148, № 2. – P. 705-713.
212. Chronic intermittent hypoxia induces 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase in rat heart / P. Klusonova, L. Rehakova, G. Borchert [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2009. – Vol. 150, № 9. – P. 4270-4277. doi:10.1210/en.2008-1493
213. Chronic isolation stress compromises JNK/c-Jun signaling in rat brain / D. Filipović, J. Zlatković, I.L. Pavićević, M. Demajo // *J. Neur. Transmiss.* – 2012. – Vol. 119, № 11. – P. 1275-1284.
214. Circadian glucocorticoid oscillations promote learning-dependent synapse formation and maintenance / C. Liston, J.M. Cichon, F. Jeanneteau [et al.] // *Nat. Neurosci.* – 2013. – Vol. 16, № 6. – P. 698-705. doi: 10.1038/nn.3387
215. Conboy, L. Stress at learning facilitates memory formation by regulating AMPA receptor trafficking through a glucocorticoid action / L. Conboy, C. Sandi // *Neuropsychopharmacology*. – 2010. – Vol. 35, № 3. – P. 674-685. doi: 10.1038/npp.2009.172

216. Conway, S.J. Biology-enabling inositol phosphates, phosphatidylinositol phosphates and derivatives / S.J. Conway, G.J. Miller // *Nat. Prod. Rep.* – 2007. – Vol. 24, № 4. – P. 687-707.
217. Corticosteroids are essential for maintaining cardiovascular function in male mice / D. Cruz-Topete, P.H. Myers, J.F. Foley [et al.] // *Endocrinology.* – 2016. – Vol. 157, № 7. – P. 2759-2771. doi:10.1210/en.2015-1604
218. Corticosterone induces rapid spinogenesis via synaptic glucocorticoid receptors and kinase networks in hippocampus / Y. Komatsuzaki, Y. Hatanaka, G. Murakami [et al.] // *PLoS ONE.* – 2012. – № 7. – P. e34124. doi: 10.1371/journal.pone.0034124
219. Corticosterone rapidly increases thorns of CA3 neurons via synaptic /extranuclear glucocorticoid receptor in rat hippocampus / M. Yoshiya, Y. Komatsuzaki, Y. Hojo [et al.] // *Front. Neural Circuits.* – 2013. – Vol. 27, № 7. – P. 191. doi: 10.3389/fncir.2013.00191
220. Critical illness-related corticosteroid insufficiency (CIRCI): a narrative review from a Multispecialty Task Force of the Society of Critical Care Medicine (SCCM) and the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) / D. Annane, S.M. Pastores, W. Arit [et al.] // *Intensive Care Med.* – 2017. – Vol. 43, № 12. – P. 1781-1792. doi: 10.1007/s00134-017-4914-x.
221. Cuong, T.T. Glucocorticoid receptor agonist compound K regulates dectin-1-dependent inflammatory signaling through inhibition of reactive oxygen species / T.T. Cuong, Y. Chul-Su, Y. Jae-Min [et al.] // *Life Sciences.* – 2009. – Vol. 85, № 17-18. – P. 625-633.
222. CYP2J2 and EETs protect against oxidative stress and apoptosis in vivo and in vitro following lung ischemia/reperfusion / W. Chen, G. Zheng S. Yang [et al.] // *Cell Physiol. Biochem.* – 2014. – Vol. 33, № 6. – P. 1663-1680. doi: 10.1159/000362950
223. Cysteine 10 is a key residue in amyloidogenesis of human transthyretin Val30Met / Y. Takaoka, M. Ohta, K. Miyakawa [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2004. – Vol. 164, № 1. – P. 337-345.

- 224.de Kloet, E.R. Corticosteroid hormones in the central stress response: quick-and-slow / E.R. de Kloet, H. Karst, M. Joëls // *Front. Neuroendocrinol.* – 2008. – Vol. 29, № 2. – P. 268-272. doi: 10.1016/j.yfrne.2007.10.002
- 225.de Kloet, E.R. Functional profile of the binary brain corticosteroid receptor system: mediating, multitasking, coordinating, integrating / E.R. de Kloet // *Eur. J. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 19, № 1-3 – P. 53-62. doi: 10.1016/j.ejphar.2013.04.053
- 226.de Kloet, E.R. Hormones and the stressed brain / E.R. de Kloet // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2004. – № 1018. – P. 1-15. doi: 10.1196/annals.1296.001
- 227.de Kloet, E.R. Therapy insight: is there an imbalanced response of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in depression? / E.R. de Kloet, R.H. Derijk, O.C. Meijer // *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* – 2007. – Vol. 3, № 2. – P. 168-179. doi: 10.1038/ncpendmet0403
- 228.Dean, R.T. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation / R.T. Dean, R. Stocker, M. Davies // *J. Biochem.* – 1997. – Vol. 324, Pt 1. – P. 1-18.
- 229.Dean, R.T. Cutting to the quick: proteolytic control of oxygen sensors / R.T. Dean // *Redox. Rep.* – 1999. – Vol. 4, № 4. – P. 135-136.
- 230.Declining incidence of sudden cardiac death from 1990-2010 in a general middle-aged and elderly population: the Rotterdam Study / M.N. Niemeijer, M.E. van den Berg, M.J. Leening [et al.] // *Heart Rhythm.* – 2015. – Vol. 12, № 1. – P. 123-129.
- 231.Dejean, C. Mechanisms of action of glucocorticoids / C. Dejean, D. Richard // *Rev. Med. Int.* – 2013. – Vol. 34, № 5. – P. 264-268.
- 232.Deletion of mineralocorticoid receptors from macrophages protects against deoxycorticosterone/salt-induced cardiac fibrosis and increased blood pressure / A.J. Rickard, J. Morgan, G. Tesch [et al.] // *Hypertension.* – 2009. – Vol. 54, № 3. – P. 537-543. doi: <http://dx.doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.131110>

233. Dexamethasone ameliorates renal ischemia-reperfusion injury / S. Kumar, D.A. Allen, J.E. Kieswich [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2009. – Vol. 20, № 11. – P. 2412-2425. doi: 10.1681/ASN.2008080868.
234. Dexamethasone impairs hypoxia-inducible factor-1 function / A.E. Wagner, G. Huck, D.P. Stiehl [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2008. – Vol. 372, № 2. – P. 336-340.
235. Dexamethasone induces human glutathione S transferase alpha 1 (hGSTA1) expression through the activation of glucocorticoid receptor (hGR) / C. Martinez-Guzman, P. Cortes-Reynosa, E. Perez-Salazar, G. Elizondo // *Toxicology.* – 2017. – Vol. 385. – P. 59-66. doi: 10.1016/j.tox.2017.05.002
236. Different susceptibility of prefrontal cortex and hippocampus to oxidative stress following chronic social isolation stress / J. Zlatković, N. Todorović, M. Bošković [et al.] // *Mol. Cell. Biochem.* – 2014. – Vol. 393, № 1-2 – P. 43-57.
237. Direct targeting of hippocampal neurons for apoptosis by glucocorticoids is reversible by mineralocorticoid receptor activation / C. Crochemore, J. Lu, Y. Wu [et al.] // *Mol. Psychiatry.* – 2005. – № 10, № 8. – P. 790-798. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.mp.4001679>
238. Distribution of 4-hydroxynonenal-protein conjugates as a marker of lipid peroxidation and parameter of malignancy in astrocytic and ependymal tumors of the brain / G. Juric-Sekhar, K. Zarkovic, G. Waeg [et al.] // *Tumori.* – 2009. – Vol. 95, № 6. – P. 762-768.
239. Dringen, R. Metabolism and functions of glutathione in brain / R. Dringen // *Prog. Neurobiol.* – 2000. – Vol. 62, № 6. – P. 649-671.
240. Effect of voluntary exercise on peripheral tissue glucocorticoid receptor content and the expression and activity of 11 β -HSD1 in the Syrian hamster / A.E. Coutinho, J.E. Campbell, S. Fediuc, M.C. Riddell // *J. Appl. Physiol.* – 2006. – Vol. 100, № 5. – P. 1483-1488.
241. Effects of exposure to intermittent hypoxia on oxidative stress and acute hypoxic ventilatory response in humans / V. Pialoux, P.J. Hanly, G.E. Foster [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2009. – Vol. 180, № 10. – P. 1002-1009.

242. Effects of hypoxia inducible factor-1 α on apoptotic inhibition and glucocorticoid receptor downregulation by dexamethasone in AtT-20 cells / C. Zhang, Q. Qiang, Y. Jiang [et al.] // BMC Endocr. Disord. – 2015. – Vol. 15. – P. 24. doi: 10.1186/s12902-015-0017-2
243. Erecińska, M. ATP and brain function / M. Erecińska, I.A. Silver // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 1989. – № 9. – P. 2-19.
244. Esterbauer, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes / H. Esterbauer, R.J. Schaur, H. Zollner // Free Radic. Biol. Med. – 1991. - Vol. 11, № 1. – P. 81-128.
245. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.86. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
246. Expression of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in alveolar epithelial cells in rats / S. Suzuki, H. Tsubochi, A. Darnel [et al.] // Endocr. J. – 2003. – Vol. 50, № 4. – P. 445-451.
247. Expression of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors in hippocampus of rats exposed to various modes of hypobaric hypoxia: Putative role in hypoxic preconditioning / E. Rybnikova, T. Glushchenko, A. Churilova [et al.] // Brain Res. – 2011. – Vol. 1381. – P. 66-77.
248. Febuxostat pretreatment attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury via mitochondrial apoptosis / S. Wang, Yu. Li, X. Song [et al.] // J. Transl. Med. – 2015. – Vol. 13. – P. 209. doi: 10.1186/s12967-015-0578-x
249. Ferrari, P. The role of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human hypertension / P. Ferrari // Biochim. Biophys. Acta. – 2010. – Vol. 1802, № 12. – P. 1178-1187. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.10.017>
250. Filipović, D. Differential regulation of CuZnSOD expression in rat brain by acute and/or chronic stress / D. Filipović, S.B. Pajović // Cell Mol. Neurobiol. – 2009. – Vol. 29, № 5. – P. 673-681.

251. Forebrain mineralocorticoid receptor overexpression enhances memory, reduces anxiety and attenuates neuronal loss in cerebral ischemia / M. Lai, K. Horsburgh, S. Bae [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* – 2007. – Vol. 25, № 6. – P. 1832-1842.
252. Free radical damage to proteins: the influence of the relative localization of radical generation, antioxidants, and target proteins / R.T. Dean, J.V. Hunt, A.J. Grant [et al.] // *Free Rad. Biol. Med.* – 1991. – V. 11, № 2. – P. 161-168.
253. Fuhrman, B. Paraoxonase 1 (PON1) deficiency in mice is associated with reduced expression of macrophage SR-BI and consequently the loss of HDL cytoprotection against apoptosis / B. Fuhrman, A. Gantman, M. Aviram // *Atherosclerosis*. – 2010. – Vol. 211. – P. 61-68.
254. Funder, J.W. Mineralocorticoid receptor antagonists: emerging roles in cardiovascular medicine / J.W. Funder // *Integr. Blood Press. Control.* – 2013. – № 6. – P. 129-138.
255. Gaillard, T. HDL dysfunctionality (Paraoxonase) is worse in nondiabetic, postmenopausal African American than in white women / T. Gaillard, S. Parthasarathy, K. Osei // *Diabetes Care*. – 2011. – Vol. 34, № 2 – P. e19.
256. Gan, L. Oxidative damage and the Nrf2-ARE pathway in neurodegenerative diseases / L. Gan, J.A. Johnson // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2014. – Vol. 1842, № 8. – P. 1208-1218.
257. Getting to the heart of intracellular glucocorticoid regeneration: 11 β -HSD1 in the myocardium / G.A. Gray, C.I. White, R.F.P. Castellan [et al.] // *J. Mol. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 58, № 1. – P. R1-R13.
258. GFAP is necessary for the integrity of CNS white matter architecture and long-term maintenance of myelination / W. Liedtke, W. Edelmann, P.L. Bieri [et al.] // *Neuron*. – 1996. – Vol. 17, № 4. – P. 607-615.
259. Glial responses to neonatal hypoxic-ischemic injury in the rat cerebral cortex / S.V. Sizonenko, E.J. Camm, A. Dayer, J.Z. Kiss // *Int. J. Dev. Neurosci.* – 2008. – Vol. 26, № 1. – P. 37-45. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2007.08.014.
260. Glucocorticoid protects rodent hearts from ischemia/reperfusion injury by activating lipocalin-type prostaglandin D synthase-derived PGD₂ biosynthesis / S. To-

- kudome, M. Sano, K. Shinmura [et al.] // J. Clin. Invest. – 2009. – Vol. 119, № 6. – P. 1477-1488. doi:10.1172/JCI37413.
261. Glucocorticoid receptor beta Induces hepatic steatosis by augmenting inflammation and inhibition of the Peroxisome Proliferator-activated Receptor (PPAR) alpha / J.S. Marino, L.A. Stechschulte, D.E. Stec [et al.] // J. Biol. Chem. – 2016. – Vol. 291, № 50. – P. 25776-25788.
262. Glucocorticoid receptor dimerization induces MKP1 to protect against TNF-induced inflammation / S. Vandevyver, L. Dejager, T. Van Bogaert [et al.] // J. Clin. Investig. – 2012. – Vol. 122, № 6. – P. 2130-2140. doi:10.1172/JCI60006
263. Glucocorticoid receptor signaling represses the antioxidant response by inhibiting histone acetylation mediated by the transcriptional activator NRF2 / M.M. Alam, K. Okazaki, L.T.T. Nguyen [et al.] // J. Biol. Chem. – 2017. – Vol. 292, № 18. – P. 7519-7530. doi: 10.1074/jbc.M116.773960.
264. Glucocorticoid treatment skews human monocyte differentiation into a hemoglobin-clearance phenotype with enhanced heme iron recycling and antioxidant capacity / F. Vallelian, C.A. Schaer, T. Kaempfer [et al.] // Blood. – 2010. – Vol. 116, № 24. – P. 5347-5356.
265. Glucocorticoids activate cardiac mineralocorticoid receptors during experimental myocardial infarction / A.S. Mihailidou, T.Y. Loan Le, M. Mardini, J.W. Funder // Hypertension. – 2009. – Vol. 54, № 6. – P. 1306-1312.
266. Glucocorticoids activate cardiac mineralocorticoid receptors in adrenalectomized Dahl salt-sensitive rats / M. Ohtake, T. Hattori, T. Murase [et al.] // Nagoya J. Med. Sci. – 2014. – Vol. 76, № 1-2. – P. 59-72.
267. Glucocorticoids orchestrate divergent effects on mood through adult neurogenesis / M.L. Lehmann, R.A. Brachman, K. Martinowich [et al.] // J. Neurosci. – 2013. – Vol. 33, № 7. – P. 2961-2972.
268. Glutathione level regulates HNE-induced genotoxicity in human erythroleukemia cells / U.C.S. Yadav, K.V. Ramana, Y.C. Awasthi, S.K. Srivastava // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2008. – Vol. 227, № 2. – P. 257-264.

269. Gomez-Sanchez, E. Brain mineralocorticoid receptors in cognition and cardiovascular homeostasis / E. Gomez-Sanchez // *Steroids*. – 2014. – Vol. 91. – P. 20–31. doi:10.1016/j.steroids.2014.08.014.
270. Gray, J.D. Dynamic plasticity: the role of glucocorticoids, brain-derived neurotrophic factor and other trophic factors / J.D. Gray, T.A. Milner, B.S. McEwen // *Neuroscience*. – 2013. – Vol. 239. – P. 214-227.
271. Groc, L. The stress hormone corticosterone conditions AMPAR surface trafficking and synaptic potentiation / L. Groc, D. Choquet, F. Chaouloff // *Nat. Neurosci.* 2008. – Vol. 11, № 8. – P. 868–870. doi: 10.1038/nn.2150
272. Growth and differentiation of adult hippocampal arctic ground squirrel neural stem cells / K.L. Drew, R.C. McGee, M.S. Wells, J.A. Kelleher-Andersson // *J. Vis. Exp.* – 2011. – Vol. 47. – P. 2199.
273. Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update: A Report From the American Heart Association // *Circulation*. – 2016. – Vol. 133, № 4. – P. e38-e360.
274. Hibernation: a natural model of tolerance to cerebral ischemia/reperfusion / K.L. Drew, J.A. Zuckerman, P.E. Shenk [et al.] // *Innate Tolerance in the CNS* / ed. J. Gidday, M. Pérez-Pinzón. – N. Y.: Springer, 2013. – P. 37-50.
275. HNE-induced 5-LO expression is regulated by NF- κ B/ERK and Sp1/p38 MAPK pathways via EGF receptor in murine macrophages / S.J. Lee, C.E. Kim, K.W. Seo, C.D. Kim // *Cardiovasc. Res.* – 2010. – Vol. 88, № 2. – P. 352-359.
276. How glucocorticoid receptors modulate the activity of other transcription factors: a scope beyond tethering / D. Ratman, W. Vanden Berghe, L. Dejager [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 380, № 1–2. – P. 41-54. doi: 10.1016/j.mce.2012.12.014
277. Hydroxynonenal differentially regulates adiponectin gene expression and secretion via activating PPAR γ and accelerating ubiquitin-proteasome degradation / Z. Wang, X. Dou, D. Gu [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2012. – Vol. 349, № 2. – P. 222-231.

278. Hypoxia induced multidrug resistance of laryngeal cancer cells via Hypoxia-Inducible Factor-1 α / D.W. Li, P. Dong, F. Wang [et al.] // Asian Pac. J. Cancer Prev. – 2013. – Vol. 14, № 8. – P. 4853-4858.
279. In obese mice, exercise training increases 11 β -HSD1 expression, contributing to glucocorticoid activation and suppression of pulmonary inflammation / S.F. Du, Q. Yu, K. Chuan [et al.] // J. Appl. Physiol. – 2017. – Vol. 123, № 4. – P. 717-727. doi: 10.1152/jappphysiol.00652.2016.
280. In vitro differentiation of cultured human CD34⁺ cells into astrocytes / K. Venkatesh, L. Srikanth, B. Vengamma [et al.] // Neurol. India. – 2013. – Vol. 61, № 4. – P. 383-388. doi:10.4103/0028-3886.1176
281. Incidence, determinants, and prognostic significance of hyperkalemia and worsening renal function in patients with heart failure receiving the mineralocorticoid receptor antagonist eplerenone or placebo in addition to optimal medical therapy: results from the Eplerenone in Mild Patients Hospitalization and Survival Study in Heart Failure (EMPHASIS-HF) / P. Rossignol, D. Dobre, J.J. McMurray [et al.] // Circ. Heart Fail. – 2014. – Vol. 7, № 1. – P. 51-58.
282. Interaction of p53 with tumor suppressive and oncogenic signaling pathways to control cellular reactive oxygen species production / M.F. Ladelfa, M.F. Toledo, J.E. Laiseca, M. Monte // Antioxid. Redox Signal. – 2011. – Vol. 15, № 6. – P. 1749-1761.
283. Intrafetal glucose infusion alters glucocorticoid signaling and reduces surfactant protein mRNA expression in the lung of the late-gestation sheep fetus / E.V. McGillick, J.L. Morrison, I.C. McMillen, S. Orgeig // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2014. – Vol. 307, № 5. – P. R538-R545. doi: 10.1152/ajpregu.00053.2014. Epub 2014 Jul 2.
284. Jackson, D.C. Physiology of hibernation under the ice by turtles and frogs / D.C. Jackson, G.R. Ultsch // J. Exp. Zool. A. – 2010. – Vol. 313, № 6. – P. 311-327.
285. Jacobs, A.T. Systems analysis of protein modification and cellular responses induced by electrophile stress / A.T. Jacobs, L.J. Marnett // Accounts Chem. Res. – 2010. – Vol. 43, № 5. – P. 673-683.

286. Jacobson, L. The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis / L. Jacobson, R. Sapolsky // *Endocrine Reviews* – 1991. – Vol. 12. – P. 118-134.
287. Jaisser, F. Emerging roles of the mineralocorticoid receptor in pathology: toward new paradigms in clinical pharmacology / F. Jaisser, N. Farman // *Pharmacol. Rev.* – 2016. – Vol. 68, № 1. – P. 49-75. doi: 10.1124/pr.115.011106.
288. Joëls, M. The neuro-symphony of stress / M. Joëls, T.Z. Baram, M. Joëls // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2009. – Vol. 10, № 6. – P. 459-466.
289. Joëls, M. Unraveling the time domains of corticosteroid hormone influences on brain activity: rapid, slow, and chronic modes / M. Joëls, R.A. Sarabdjitsingh, H. Karst // *Pharmacol. Rev.* – 2012. – Vol. 64, № 4. – P. 901-938.
290. Jones, L.A. Spectrophotometric studies of some 2,4-dinitrophenylhydrazones / L.A. Jones, J.C. Holmes, R.B. Seligman // *Anal. Chem.* – 1956. – Vol. 28, № 2. – P. 191-198.
291. Jornayvaz, F.R. Diacylglycerol activation of protein kinase C ϵ and hepatic insulin resistance / F.R. Jornayvaz, G.I. Shulman // *Cell Metab.* – 2012. – Vol. 15, № 5. – P. 574-584.
292. Kalinski, P. Regulation of immune responses by prostaglandin E₂ / P. Kalinski // *J. Immunol.* – 2012. – Vol. 188, № 1. – P. 21-28.
293. Kaplan, J.H. Biochemistry of Na,K-ATPase / J.H. Kaplan // *Annu Rev. Biochem.* – 2002. – Vol. 71. – P. 511-535.
294. Kay, J.G. Phosphatidylserine-mediated cellular signaling / J.G. Kay, S. Grinstein // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2013. – Vol. 991. – P. 177-193.
295. Kling, M.A. Glucocorticoid inhibition in the treatment of depression: can we think outside the endocrine hypothalamus? / M.A. Kling, V.Y. Coleman, J. Schulkin // *Depress Anxiety.* – 2009. – Vol. 26, № 7. – P. 641-649.
296. Krivoruchko, A. Activation of antioxidant defenses in response to freezing in freeze tolerant painted turtle hatchlings / A. Krivoruchko, K.B. Storey // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2010. – Vol. 1800, № 7. – P. 662-668.

297. Krivoruchko, A. Epigenetics in anoxia tolerance: a role for histone deacetylases / A. Krivoruchko, K.B. Storey // *Mol. Cell. Biochem.* – 2010; Vol. 342, № 1–2. P. 151-161.
298. Krivoruchko, A. Forever young: mechanisms of natural anoxia tolerance and potential links to longevity / A. Krivoruchko, K.B. Storey // *Oxid. Med. Cell. Longevity.* – 2010. – Vol. 3, № 3. – P. 186-198.
299. Krivoruchko, A. Molecular mechanisms of turtle anoxia tolerance: A role for NFκB / A. Krivoruchko, K.B. Storey // *Gene.* – 2010. – Vol. 450, № 1–2. – P. 63-69.
300. Krivoruchko, A. Regulation of the heat shock response under anoxia in the turtle, *Trachemys scripta elegans* / A. Krivoruchko, K.B. Storey // *J. Comp. Physiol. B.* – 2010. – Vol. 180, № 3. – P. 403-414.
301. Kumar, R. Transactivation functions of the N-terminal domains of nuclear hormone receptors: protein folding and coactivator interactions / R. Kumar, E.B. Thompson // *Mol. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 17, № 1. – P. 1-10.
302. Latanich, C.A. Searching for NF-kappaB-based treatments of ischemia reperfusion injury / C.A. Latanich, L.H. Toledo-Pereyra // *J. Invest. Surg.* – 2009. – Vol. 22, № 4. – P. 301-315.
303. Lipoxidation adducts with peptides and proteins: deleterious modifications or signaling mechanisms? / R.M. Domingues, P. Domingues, T. Melo [et al.] // *J. Proteomics.* – 2013. – Vol. 92. – P. 110-131.
304. Lipton, P. Ischemic cell death in brain neurons / P. Lipton // *Physiol. Rev.* – 1999. – Vol. 79, № 4. – P. 1431-1568.
305. Local glucocorticoid production in the mouse lung is induced by immune cell stimulation / N. Hostettler, P. Bianchi, C. Gennari-Moser [et al.] // *Allergy.* – 2012. – Vol. 67, № 2. – P. 227-34. doi: 10.1111/j.1398-9995.2011.02749.x.
306. Localization of glucocorticoid receptors at postsynaptic membranes in the lateral amygdala / L.R. Johnson, C. Farb, J.H. Morrison [et al.] // *Neuroscience.* – 2005. – Vol. 136, № 1. – P. 289-299. doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.06.050

307. Localization of mineralocorticoid receptors at mammalian synapses / E.M. Prager, J. Brielmaier, H.C. Bergstrom, [et al.] // PLoS ONE. – 2010. – Vol. 5, № 12. – P. e14344. doi: 10.1371/journal.pone.0014344
308. Loss of the limbic mineralocorticoid receptor impairs behavioral plasticity / S. Berger, D.P. Wolfer, O. Selbach [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 2006. – Vol. 103, 3 1. – P. 195-200. doi: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0503878102>
309. Lv, Q. Glucocorticoid combined with hyaluronic acid enhance glucocorticoid receptor activity through inhibiting p-38MAPK signal pathway activation in treating acute lung injury in rats / Q. Lv // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. – 2016. – Vol. 20, № 18. – P. 3920-3929.
310. Maser, E. 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: purification from human liver and characterization as carbonyl reductase of xenobiotics / E. Maser, V. Wsol, H.J. Martin // Mol. Cell. Endocrinol. – 2006. – Vol. 248, № 1–2. – P. 34-37.
311. Massey, K.A. Lipidomics of oxidized polyunsaturated fatty acids / K.A. Massey, A. Nicolaou // Free Radic. Biol. Med. – 2013. – Vol. 59. – P. 45-55.
312. McIntosh, L. Glucocorticoids may alter antioxidant enzyme capacity in the brain: Kainic acid studies / L. McIntosh, K. Cortopassi, R. Sapolsky // Brain Res. – 1998. – Vol. 791, № 1–2. – P. 215-222.
313. Mechanism of glucocorticoid-induced oxidative stress in rat hippocampal slice cultures / J.-M. You, S.-J. Yun, K.N. Nam [et al.] // Canad. J. Physiol. Pharmacol. – 2009. – Vol. 87, № 6. – P. 440-447.
314. Meinel, S. Mineralocorticoid receptor signaling: crosstalk with membrane receptors and other modulators / S. Meinel, M. Gekle, C. Grossmann // Steroids. – 2014. – Vol. 91. – P. 3-10. doi: 10.1016/j.steroids.2014.05.017
315. Membrane associated synaptic mineralocorticoid and glucocorticoid receptors are rapid regulators of dendritic spines / M.F. Russo, S.R.A. Loy, A.R. Battle, L.R. Johnson // Front. Cell. Neurosci. – 2016. – Vol. 10. – P. 161. doi: 10.3389/fncel.2016.00161

- 316.Messaoudi, S. Aldosterone, mineralocorticoid receptor, and heart failure / S. Messaoudi, F. Azibani, C. Delcayre, F. Jaisser // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2012. – Vol. 350, № 2. – P. 266-272. doi:10.1016/j.mce.2011.06.038
- 317.Metabolic syndrome without obesity: Hepatic overexpression of 11betahydroxysteroid dehydrogenase type 1 in transgenic mice / J.M. Paterson, N.M. Morton, C. Fievet [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2004. – Vol. 101, № 18. – P. 7088-7093.
- 318.Metaplasticity of amygdalar responses to the stress hormone corticosterone / H. Karst, S. Berger, G. Erdmann [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2010. – Vol. 107, № 32. – P. 14449-14454.
- 319.MicroRNA 18 and 124a down-regulate the glucocorticoid receptor: implications for glucocorticoid responsiveness in the brain / E. Vreugdenhil, C.S.L. Verissimo, R. Mariman [et al.] // *Endocrinology.* – 2009. – Vol. 150, № 5. – P. 2220-2228.
- 320.Mild ischemic Injury Leads to Long-Term Alterations in the Kidney: Amelioration by Spironolactone Administration / J. Barrera-Chimal, R. Pérez-Villalva, J.A. Ortega [et al.] // *Int. J. Biol. Sci.* – 2015. – Vol. 11, № 8. – P. 892-900. doi:10.7150/ijbs.11729
- 321.Milton, S.L. Adenosine and ATP-sensitive potassium channels modulate dopamine release in the anoxic turtle (*Trachemys scripta*) striatum / S.L. Milton, P.L. Lutz // *Am. J. Physiol.* – 2005. – Vol. 289, № 1. – P. R77-R83.
- 322.Milton, S.L. Mechanisms for maintaining extracellular glutamate levels in the anoxic turtle striatum / S.L. Milton, J.W. Thompson, P.L. Lutz // *Am. J. Physiol.* – 2002. – Vol. 282, № 5. – P. R1317-R1323.
- 323.Mineralocorticoid and glucocorticoid receptor balance in control of HPA axis and behaviour / A.P. Harris, M.C. Holmes, E.R. de Kloet [et al.] // *Psychoneuroendocrinology.* – 2013. – Vol. 38, № 5. – P. 648-658. doi: 10.1016/j.psyneuen.2012.08.007
- 324.Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors at the neuronal membrane, regulators of nongenomic corticosteroid signalling / F.L. Groeneweg, H. Karst, E.R.

- de Kloet, M. Joëls // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2012. – Vol. 350, № 2. – P. 299-309. doi: 10.1016/j.mce.2011.06.020
325. Mineralocorticoid excess or glucocorticoid insufficiency: renal and metabolic phenotypes in a rat Hsd11b2 knockout model / L.J. Mullins, C.J. Kenyon, M.A. Bailey [et al.] // *Hypertension.* – 2015. – Vol. 66, № 3. – P. 667-673.
326. Mineralocorticoid receptor antagonism attenuates experimental pulmonary hypertension / I.R. Preston, D. Kristen, R.R. Sagliani [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2013. – Vol. 304, № 10. – P. L678-L688. doi:10.1152/ajplung.00300.2012
327. Mineralocorticoid receptor antagonism attenuates experimental pulmonary hypertension / I.R. Preston, K.D. Sagliani, R.R. Warburton [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2013. – Vol. 304, № 10. – P. L678-688.
328. Mineralocorticoid receptor blockade reduced oxidative stress in renal transplant recipients: a double-blind, randomized pilot study / M. Ojeda-Cervantes, J. Barra-Chimal, J. Alberú [et al.] // *Am. J. Nephrol.* – 2013. – Vol. 37, № 5. – P. 481-90. doi: 10.1159/000350539.
329. Mineralocorticoid receptor expression and increased survival following neuronal injury / M.R. Macleod, I.-M. Johansson, I. Söderström [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* – 2003. – Vol. 17, № 8. – P. 1549-1555. doi: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02587.x>
330. Mineralocorticoid receptor in adipocytes and macrophages: a promising target to fight metabolic syndrome / V. Marzolla, A. Armani, A. Feraco [et al.] // *Steroids.* – 2014. – Vol. 91. – P. 46–53.
331. Mineralocorticoid receptor overexpression facilitates differentiation and promotes survival of embryonic stem cell-derived neurons / M. Munier, F. Law, G. Meduri [et al.] // *Endocrinology.* – 2012. – Vol. 153, № 3. – P. 1330-1340. doi: 10.1210/en.2011-1436
332. Mineralocorticoid receptors are indispensable for nongenomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone / H. Karst, S. Berger, M.

- Turiault [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 2005. – Vol. 102, № 52. – P. 19204–19207. doi: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0507572102>
333. Mitochondrial reactive oxygen species-mediated NLRP3 inflammasome activation contributes to aldosterone-induced renal tubular cells injury / W. Ding, H. Guo, C. Xu [et al.] // Oncotarget. – 2016. – Vol. 7, № 14. – P. 17479-17491. doi: 10.18632/oncotarget.8243
334. Miyata, T. Alterations in nonenzymatic biochemistry in uremia: origin and significance of «carbonyl stress» in long-term uremic complications / T. Miyata, C. De Strihou, K. Kurokawa // Kidney Int. – 1999. – Vol. 55, № 2. – P. 389-399.
335. Modulation of stress proteins and apoptotic regulators in the anoxia tolerant turtle brain / S. Kesaraju, R. Schmidt-Kastner, H.M. Prentice, S.L. Milton // J. Neurochem. – 2009. – Vol. 109, № 5. – P. 1413-26.
336. Modulation of transcriptional mineralocorticoid receptor activity by nitrosative stress / S. Ruhs, N. Stratz, K. Schlor [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2012. – Vol. 53, № 5. – P. 1088-1100.
337. Morgan, M.J. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling / M.J. Morgan, Z. Liu // Cell Res. – 2011. – Vol. 21, № 1. – P. 103-115.
338. Myers, B. Glucocorticoid actions on synapses, circuits, and behavior: implications for the energetics of stress / B. Myers, J.M. McKlveen, J.P. Herman // Front. Neuroendocrinol. – 2014. – Vol. 35, № 2. – P. 180-196.
339. NADPH oxidase mediates depressive behavior induced by chronic stress in mice / J.S. Seo, J.Y. Park, J. Choi [et al.] // J. Neurosci. – 2012. – Vol. 32, № 28. – P. 9690-9699.
340. Nayak, G.H. Neuroprotective signaling pathways are modulated by adenosine in the anoxia tolerant turtle / G.H. Nayak, H.M. Prentice, S.L. Milton // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 2011. – Vol. 31, № 2. – P. 467-475.
341. Neuroglobin of seals and whales: evidence for a divergent role in the diving brain / M. Schneuer, S. Flachsbarth, N.U. Czech-Damal [et al.] // Neuroscience. – 2012. – Vol. 223. – P. 35-44.

342. Neuroglobin protects nerve cells from apoptosis by inhibiting the intrinsic pathway of cell death / S. Raychaudhuri, J. Skommer, K. Henty [et al.] // *Apoptosis*. – 2010. – Vol. 15, № 4. – P. 401-411.
343. New insights into the anti-inflammatory mechanisms of glucocorticoids: an emerging role for glucocorticoid-receptor-mediated transactivation / S. Vandevyver, L. Dejager, J. Tuckermann, C. Libert // *Endocrinology*. – 2013. – Vol. 154, № 3. – P. 993-1007. doi: 10.1210/en.2012-2045
344. New mode of hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis regulation: significance for stress-related disorders / J.M. Reul, A. Bilang-Bleuel, S. Droste [et al.] // *Zeitschr. Rheumatol.* – 2000. – Vol. 59, Suppl. 2 – P. 1122-1125.
345. Nigam, S. Phospholipase A(2)s and lipid peroxidation / S. Nigam, T. Schewe // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2000. – Vol. 1488, № 1–2. – P. 167-181.
346. Nixon, M. It takes two to tango: dimerisation of glucocorticoid receptor and its anti-inflammatory functions / M. Nixon, R. Andrew, K.E. Chapman // *Steroids*. – 2013. – Vol. 78, № 1. – P. 59-68. doi: 10.1016/j.steroids.2012.09.013
347. Nonsteroidal mineralocorticoid receptor antagonist finerenone protects against acute kidney injury-mediated chronic kidney disease: role of oxidative stress / L. Lattenist, S.M. Lechner, S. Messaoudi [et al.] // *Hypertension*. – 2017. – Vol. 69, № 5. – P. 870-878. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08526.
348. Oakley, R.H. Glucocorticoid signaling in the heart: A cardiomyocyte perspective / R.H. Oakley, J.A. Cidlowski // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* – 2015. – Vol. 153. – P. 27-34. doi:10.1016/j.jsbmb.2015.03.009.
349. Onyango, A.N. New hypotheses on the pathways of formation of malondialdehyde and isofurans / A.N. Onyango, N. Baba // *Free Radic. Biol. Med.* – 2010. – Vol. 49, № 10. – P. 1594-1600.
350. Opposing effects of Bad phosphorylation at two distinct sites by Akt1 and JNK1/2 on ischemic brain injury / X.T. Wang, D.S. Pei, J. Xu [et al.] // *Cell. Signal.* – 2007. – Vol. 19, № 9. – P. 1844-1856.

- 351.Oxidative stress: the mitochondriadependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis / K. Sinha, J. Das, P.B. Pal, P.C. Sil // Arch. Toxicol. – 2013. – Vol. 87, № 7. – P. 1157-1180.
- 352.Oxidized transthyretin in amniotic fluid as an early marker of preeclampsia / C. Vascotto, A.M. Salzano, C. D'Ambrosio [et al.] // J. Proteome. – 2007. – Vol. 6, № 1. – P. 160-170.
- 353.Pacák, K. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders / K. Pacák, M. Palkovits // Endocrine Reviews. – 2001. – V.22, № 4. – P. 502-548.
- 354.Padhy, G. Abundance of plasma antioxidant proteins confers tolerance to acute hypobaric hypoxia exposure / G. Padhy, N.K. Sethy, L. Ganju, K. Bhargava // High Altitude Med. Biol. – 2013. – Vol. 14, № 3. – P. 289-297.
- 355.Painted turtle cortex is resistant to an in vitro mimic of the ischemic mammalian penumbra / M.E. Pamenter, D.W. Hogg, X.Q. Gu [et al.] // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 2012. – Vol. 32, № 11. – P. 2033-2043.
- 356.Pamenter, M.E. Delta-opioid receptor antagonism induces NMDA receptor-dependent excitotoxicity in anoxic turtle cortex / M.E. Pamenter, L.T. Buck // J. Exp. Biol. – 2008. – Vol. 211. – P. 3512-3517.
- 357.Panaxadiol saponin and dexamethasone improve renal function in lipopolysaccharide-induced mouse model of acute kidney injury / Y. Chen, Y. Du, Y. Li [et al.] // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10, № 7. – P. e0134653. doi: 10.1371/journal.pone.0134653
- 358.Paraoxonase (PON1) deficiency is associated with increased macrophage oxidative stress: Studies in PON1-knockout mice / O. Rozenberg, M. Rosenblat, R. Coleman [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2003. – Vol. 34, № 6. – P. 774-784.
- 359.Pariante, C.M. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments / C.M. Pariante, S.L. Lightman // Trends Neurosci. – 2008. – Vol. 31, № 9. – P. 464-468.

360. Patel, R. Disruptive effects of glucocorticoids on glutathione peroxidase biochemistry in hippocampal cultures / R. Patel, L. McIntosh, J. McLaughlin // *J. Neurochem.* – 2002. – Vol. 82, № 1. – P. 118-125.
361. Patel, R. New molecular mediators of glucocorticoid receptor activity in metabolic tissues / R. Patel, J. Williams-Dautovich, L. Carolyn // *Mol. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 28, № 7. – P. 999-1011. doi: 10.1210/me.2014-1062
362. Pekny, M. Astrocyte activation and reactive gliosis / M. Pekny, M. Nilsson // *Glia.* – 2005. – Vol. 50, № 4. – P. 427-434. doi: 10.1002/glia.20207.
363. Peterson, B.L. Adult naked mole-rat brain retains the NMDA receptor subunit GluN2D associated with hypoxia tolerance in neonatal mammals / B.L. Peterson, T.J. Park, J. Larson // *Neurosci. Lett.* – 2012. – Vol. 506, № 2. – P. 342-345.
364. Post-ischemic activation of protein kinase C epsilon protects the hippocampus from cerebral ischemic injury via alterations in cerebral blood flow / D. Della-Morte, A.P. Raval, K.R. Dave [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2011. – Vol. 482, № 2. – P. 158-162.
365. Potentiation of glucocorticoid activity in hypoxia through induction of the glucocorticoid receptor / M.O. Leonard, C. Godson, H.R. Brady, C.T. Taylor // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 174, № 4. – P. 2250-2257.
366. PPAR- α activation as a preconditioning-like intervention in rats in vivo confers myocardial protection against acute ischaemia-reperfusion injury: involvement of PI3K-Akt / T. Ravingerova, S. Carnicka, M. Nemcekova [et al.] // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 90, № 8. – P. 1135-1144.
367. PPAR γ signaling and metabolism: the good, the bad and the future / M. Ahmadian, J.M. Suh, N. Hah [et al.] // *Nat. Med.* – 2013. – Vol. 19, № 5. – P. 557-566.
368. Proinflammatory cytokine induction of 11 β hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 β HSD1) in human adipocytes is mediated by MEK, C/EBP β , and NF- κ B/RelA / C.L. Esteves, V. Kelly, A. Breton [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2014. – Vol. 99, № 1. – P. E160–E168. doi:10.1210/jc.2013-1708.

369. Prooxidant properties of p66shc are mediated by mitochondria in human cells / E.R. Galimov, B.V. Chernyak, A.S. Sidorenko [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, № 3. – P. e86521. doi: 10.1371/journal.pone.0086521.
370. Protein carbonylation and metabolic control systems / J.M. Curtis, W.S. Hahn, E.K. Long, J.S. Burrill // *Trends Endocrinol. Metab.* – 2012. – Vol. 23, № 8. – P. 399-406.
371. Protein kinase C epsilon activation delays neuronal depolarization during cardiac arrest in the euthermic arctic ground squirrel / K.R. Dave, R. Anthony Defazio, A.P. Raval [et al.] // *J. Neurochem.* – 2009. – Vol. 110, № 4. – P. 1170-1179.
372. QTL analysis of multiple behavioral measures of anxiety in mice / N.D. Henderson, M.G. Turri, J.C. DeFries, J. Flint // *Behav. Genet.* — 2004. — Vol. 34, № 3. – P. 267-293.
373. Quantification of heat shock protein mRNA expression in warm and cold anoxic turtles (*Trachemys scripta*) using an external RNA control for normalization / J.A. Stecyk, C.S. Couturier, C.E. Fagernes [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol.* – 2012. – Vol. 7, № 1. – P. 59-72.
374. Rapid MR trafficking / M. Gekle, M. Bretschneider, S. Meinel [et al.] // *Steroids*. – 2013. – Vol. 81. – P. 103-108. doi: 10.1016/j.steroids.2013.10.016
375. Rauchová, H. Hypoxia-induced lipid peroxidation in the brain during postnatal ontogenesis / H. Rauchová, M. Vokurková, J. Koudelová // *Physiol. Res.* – 2012. – Vol. 61, suppl. 1. – P. S89-S101.
376. Ray, P.D. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling / P.D. Ray, B.W. Huang, Y. Tsuji // *Cell Signal.* – 2012. – Vol. 24, 3 5. – P. 981-990.
377. Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes / D.V. Zorov, C.R. Filburn, L.O. Klotz, J.L. Zweier // *J. Exp. Med.* – 2000. – Vol. 192, № 7. – P. 1001-1014.

378. Reagan, L. Controversies surrounding glucocorticoid-mediated cell death in the hippocampus / L. Reagan, B. McEwen // *J. Chem. Neuroanat.* – 1997. – Vol. 13, № 3. – P. 149-161.
379. Reciprocal regulation of HIF-1 α and 15-LO/15-HETE promotes anti-apoptosis process in pulmonary artery smooth muscle cells during hypoxia / L. Yao, X. Nie, S. Shi [et al.] // *Prostagland. Other Lipid Mediat.* – 2012. – Vol. 99, № 3–4. – P. 96-106.
380. Redox control of protein kinase C: cell-and disease-specific aspects / C. Giorgi, C. Agnoletto, C. Baldini [et al.] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2010. - Vol. 13, № 7. – P. 1051-1085.
381. Regulation of apoptotic and inflammatory cell signaling in cerebral ischemia: the complex roles of heat shock protein 70 / R.G. Giffard, R.Q. Han, J.F. Emery [et al.] // *Anesthesiology.* – 2008. – Vol. 109, № 2. – P. 339-348.
382. Regulatory effects of the mitochondrial energetic status on mitochondrial p66Shc / F. Orsini, M. Moroni, C. Contursi [et al.] // *Biol. Chem.* – 2006. – Vol. 387, № 10–11. – P. 1405-1410.
383. Ribeiro, C.A. Neurochemical evidence that 3-methylglutaric acid inhibits synaptic Na⁺,K⁺-ATPase activity probably through oxidative damage in brain cortex of young rats / C.A. Ribeiro, F.H. Hickmann, M. Wajner // *Int. J. Dev. Neurosci.* – 2011. – Vol. 29, № 1. – P. 1-7.
384. Rochu, D. Human paraoxonase: A promising approach for pre-treatment and therapy of organophosphorus poisoning / D. Rochu, E. Chabriere, P. Masson // *Toxicology.* – 2007. – Vol. 233, № 1–3. – P. 47-59.
385. Role of PKC-dependent pathways in HNE-induced cell protein transport and secretion / U.M. Marinari, M. Nitti, M.A. Pronzato, C. Domenicotti // *Mol. Asp. Med.* – 2003. – Vol. 24, № 4-5. – P. 205-211.
386. Role of the glucocorticoid receptor for regulation of hypoxia-dependent gene expression / T. Kodama, N. Shimizu, N. Yoshikawa [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278, № 35. – P. 33384-33391.

- 387.Roles of oxidative stress and the mineralocorticoid receptor in cardiac pathology in a rat model of metabolic syndrome / K. Takahashi, T. Murase, M. Takatsu [et al.] // Nagoya J. Med. Sci. – 2015. – Vol. 77, № 1-2. – P. 275-289.
- 388.Sapolsky, R. Stress, glucocorticoids, and damage to the nervous system: the current state of confusion / R. Sapolsky // Stress. – 1996. – Vol. 1, № 1. – P. 1-19.
- 389.Sapolsky, R.M. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions / R.M. Sapolsky, L.M. Romero, A.U. Munck // Endocrine Rev. – 2000. Vol. 21, № 1. P. 55-89 doi: 10.1210/edrv.21.1.0389
- 390.Selye, H. The concept of stress in experimental physiology //Stress and Psychiatric disorder / H. Selye. – Oxford: Blackwell, 1960.
- 391.SETDB2 links glucocorticoid to lipid metabolism through Insig2a regulation / M. Roqueta-Rivera, R.M. Esquejo, P.E. Phelan [et al.] // Cell Metab. – 2016. – Vol. 24, № 3. – P. 474-484. doi:10.1016/j.cmet.2016.07.025.
- 392.Shaulian, E. AP-1 – the Jun proteins: Oncogenes or tumor suppressors in disguise? / E. Shaulian // Cell. Signal. – 2010. – Vol. 22, № 6. – P. 894-899.
- 393.Shibkova, D.Z. Influence of internal exposure to ⁹⁰SR on hemopoetic stem cells of CBA mice / D.Z. Shibkova, O.A. Andreeva, E.I. Tolstykh // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2000. – Т. 46, № 5. – С. 575.
- 394.Singlet-oxygen-mediated amino acid and protein oxidation: formation of tryptophan peroxides and decomposition products / M. Gracanin, C.L. Hawkins, D.I. Pattison, M.J. Davies // Free Radic. Biol. Med. – 2009. – Vol. 47, № 1. – P. 92-102.
- 395.Skulachev, V.P. Mitochondria-targeted antioxidants as promising drugs for treatment of age-related brain diseases / V.P. Skulachev // J. Alzheimers Dis. – 2012. – Vol. 28, № 2. – P. 283-289.
- 396.Sofroniew, M.V. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation / M.V. Sofroniew // Trends Neurosci. – 2009. – Vol. 32, № 3. – P. 638-647. doi: 10.1016/j.tins.2009.08.002.

397. Song, I.H. Non-genomic glucocorticoid effects to provide the basis for new drug developments / I.H. Song, F. Buttgereit // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2006. – Vol. 246, № 1-2. – P. 142-146.
398. Specific modulation of Na⁺ channels in hippocampal neurons by protein kinase C epsilon / Y. Chen, A.R. Cantrell, R.O. Messing [et al.] // *J. Neurosci.* – 2005. – Vol. 25, № 2. – P. 507-513.
399. Sphingosine-1-phosphate signaling in physiology and diseases / Y. Takuwa, Y. Okamoto, K. Yoshioka, N. Takuwa // *BioFactors.* – 2012. – Vol. 38, № 5. – P. 329-337.
400. Storey, K.B. Tribute to P.L. Lutz: putting life on 'pause' – molecular regulation of hypometabolism / K.B. Storey, J.M. Storey // *J. Exp. Biol.* – 2007. – Vol. 210. – P. 1700-1714.
401. Subtle shifts in the ratio between pro- and antiapoptotic molecules after activation of corticosteroid receptors decide neuronal fate / O. Almeida, G. Conde, C. Crochmore [et al.] // *FASEB J.* – 2000. – Vol. 14, № 5. – P. 779-790.
402. Sultana, R. Lipid peroxidation triggers neurodegeneration: a redox proteomics view into the alzheimer disease brain / R. Sultana, M. Perluigi, D.A. Butterfield // *Free Radic. Biol. Med.* – 2013. – Vol. 62. – P. 157-169. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.09.027.
403. Sun, Z. Dissociating fatty liver and diabetes / Z. Sun, M.A. Lazar // *Trends Endocrinol. Metab.* – 2013. – Vol. 24, № 1. – P. 4-12.
404. Suppression of the Nrf2-dependent antioxidant response by glucocorticoids and 11b-hsd1-mediated glucocorticoid activation in hepatic cells / D.V. Kratschmar, D. Calabrese, J. Walsh [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, № 5. – P. e36774. doi: 10.1371/journal.pone.0036774.
405. Tasker, J.G. Minireview: rapid glucocorticoid signaling via membrane-associated receptors / J.G. Tasker, S. Di, R. Malcher-Lopes // *Endocrinology.* – 2006. – Vol. 147, № 12. – P. 5549-5556. doi: 10.1210/en.2006-0981

406. Taye, A. Hepatoprotective effect of the selective mineralocorticoid receptor antagonist, eplerenone against carbon tetrachloride-induced liver injury in rats / A. Taye, I.T. Abdel-Raheem // *Ann. Hepatol.* – 2012. – Vol. 11, № 3. – P. 384-391.
407. Th2 cytokine-induced upregulation of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-1 facilitates glucocorticoid suppression of proasthmatic airway smooth muscle function / A. Hu, S. Fatma, J. Cao [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2009. – Vol. 296, № 5. – P. L790-803. doi: 10.1152/ajplung.90572.2008.
408. The 11-ketosteroid 11-ketodexamethasone is a glucocorticoid receptor agonist / A.G. Rebuffat, S. Tam, A.R. Nawrocki [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2004. – Vol. 214, № 1-2. – P. 27-37.
409. The brain mineralocorticoid receptor and stress resilience / F. ter Heegde, R.H. De Rijk, C.H. Vinkers // *Psychoneuroendocrinology.* – 2015. – Vol. 52. – P. 92-110. doi: 10.1016/j.psyneuen.2014.10.022
410. The effect of spironolactone on acute kidney injury after cardiac surgery: a randomized, placebo-controlled trial / R. Barba-Navarro, M. Tapia-Silva, C. Garza-Garcia [et al.] // *Am. J. Kidney Dis.* – 2017. – Vol. 69, № 2. – P. 192-199. doi: 10.1053/j.ajkd.2016.06.013.
411. The effects of the selective mineralocorticoid receptor antagonist eplerenone on hepatic fibrosis induced by bile duct ligation in rat / T. Matono, M. Koda, S. Tokunaga [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2010. – Vol. 25, № 6. – P. 875-882.
412. The glucocorticoid receptor: cause of or cure for obesity? / K. John, J.S. Marino, E.R. Sanchez, T.D. Hinds Jr. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2016. – Vol. 310, № 4. – P. E249-E257. doi:10.1152/ajpendo.00478.2015
413. The glucose-6-phosphatase catalytic subunit gene promoter contains both positive and negative glucocorticoid response elements / B.T. Vander Kooi, H. Onuma, J.K. Oeser [et al.] // *Mol. Endocrinol.* – 2005. – Vol. 19, № 12. – P. 3001-3022.
414. The kampo medicine yokukansan decreases microRNA-18 expression and recovers glucocorticoid receptors protein expression in the hypothalamus of stressed mice / S. Shimizu, T. Tanaka, T. Takeda [et al.]. // *Hindawi Publish. Corpor. Bi-*

- oMed. Res. Int. – 2015. – Vol. 2015, Article ID 797280, 8 pages.
<http://dx.doi.org/10.1155/2015/797280>
415. The mineralocorticoid signaling pathway throughout development: expression, regulation and pathophysiological implications / L. Martinerie, M. Munier, D. Le Menuet [et al.] // *Biochimie*. – 2013. – Vol. 95, № 2. – P. 148-157. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2012.09.030>
416. The mitochondrial permeability transition pore and its role in myocardial ischemia reperfusion injury / S. Ong, P. Samangouei, S.B. Kalkhoran, D.J. Hausenloy // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2015. – Vol. 78. – P. 23-34.
417. The nature of the GRE influences the screening for GR-activity enhancing modulators / K. Dendoncker, S. Timmermans, K. Van Looveren [et al.] // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12, № 7. – P. e0181101. doi: [10.1371/journal.pone.0181101](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181101)
418. The prognostic value of nutritional and inflammatory indices in critically ill patients with acute respiratory failure / P. Schlossmacher, M. Hasselmann, N. Meyer [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2002. – Vol. 40, № 12. – P. 1339-1343.
419. The role of mitochondria in oxidative and nitrosative stress during ischemia/reperfusion in the rat kidney / E.Y. Plotnikov, A.V. Kazachenko, M.Y. Vyssokich [et al.] // *Kidney Int.* – 2007. – Vol. 72, № 12. – P. 1493-1502.
420. The role of the mineralocorticoid receptor in adipocyte biology and fat metabolism / V. Marzolla, A. Armani, M.C. Zennaro [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2012. – Vol. 350, № 2. – P. 281-288. doi: [10.1016/j.mce.2011.09.011](https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.09.011)
421. The three-gene paraoxonase family: physiologic roles, actions and regulation / L.P. Precourt, D. Amre, M.C. Denis [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2011. – Vol. 214, № 1. – P. 20-36.
422. There goes the neighborhood: Assembly of transcriptional complexes during the regulation of metabolism and inflammation by the glucocorticoid receptor / F. Greulich, H.M. Charlotte, D.A. Rollins [et al.] // *Steroids*. – 2016. – Vol. 114. – P. 7-15. doi: [10.1016/j.steroids.2016.05.003](https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.05.003)
423. Thompson, J.W. Regulation of extracellular glutamate levels in the long-term anoxic turtle striatum: coordinated activity of glutamate transporters, adenosine, K

- (ATP) (+) channels and GABA / J.W. Thompson, H.M. Prentice, P.L. Lutz // J. Biomed. Sci. – 2007. – Vol. 14, № 6. – P. 809-817.
424. Thomson, F. Innovative approaches for the treatment of depression: targeting the HPA axis / F. Thomson, M. Craighead // Neurochem. Res. – 2008. – Vol. 33, № 4. – P. 691-707.
425. Uniquely hominid features of adult human astrocytes / N.A. Oberheim, T. Takanashi, X. Han [et al.] // J. Neurosci. – 2009. – Vol. 29, № 10. – P. 3276-3287. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4707-08.2009.
426. Up-regulated tumor necrosis factor-associated factor 6 level is correlated with apoptosis in the rat cerebral ischemia and reperfusion / P. Yuan, Z. Liu, M. Liu [et al.] // Neurol. Sci. – 2013. – Vol. 34, № 7. – P. 1133-1138.
427. Upregulation of steroidogenic acute regulatory protein by hypoxia stimulates aldosterone synthesis in pulmonary artery endothelial cells to promote pulmonary vascular fibrosis / B.A. Maron, W.M. Oldham, S.Y. Chan [et al.] // Circulation. – 2014. – Vol. 130, № 2. – P. 168-179. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.007690.
428. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat / S. Pellow, P. Chopin, S. E. File [et al.] // J. Neurosci. – 1985. – Vol. 14, № 3. – P. 149-167.
429. Vandevyver, S. On the Trail of the Glucocorticoid Receptor: Into the Nucleus and Back / S. Vandevyver, L. Dejager, C. Libert // Traffic. – 2012. – Vol. 13, № 3. – P. 364-374.
430. Voelkel, N.F. The role of hypoxia in pulmonary vascular diseases: a perspective / N.F. Voelkel, S. Mizuno, H.J. Bogaard // J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. – 2013. – Vol. 304, № 7. – P. L457-465.
431. Wanka, C. Tp53-induced glycolysis and apoptosis regulator (TIGAR) protects glioma cells from starvation-induced cell death by up-regulating respiration and improving cellular redox homeostasis / C. Wanka, J.P. Steinbach, J. Rieger // J. Biol. Chem. – 2012. – Vol. 287, № 40. – P. 33436-33446.

432. Willmore, W.G. Purification and properties of glutathione reductase from liver of the anoxia-tolerant turtle, *Trachemys scripta elegans* / W.G. Willmore, K.B. Storey // *Mol. Cell. Biochem.* – 2007. – Vol. 297, № 1–2. – P. 139-149.
433. Winczura, A. Damage of DNA and proteins by major lipid peroxidation products in genome stability / A. Winczura, D. Zdżalik, B. Tudek // *Free Radic. Res.* – 2012. – Vol. 46, № 4. – P. 442-459.
434. Wunderlich, M.T. Release of glial fibrillary acidic protein is related to the neurovascular status in acute ischemic stroke / M.T. Wunderlich, C.W. Wallesch, M. Goertler // *Eur. J. Neurol.* – 2006. – Vol. 13, № 10. – P. 1118-1123.
435. Wyrwoll, C.S. 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenases and the brain: from zero to hero, a decade of progress / C.S. Wyrwoll, M.C. Holmes, J.R. Seckl // *Front. Neuroendocrinol.* – 2011. – Vol. 32, № 3. – P. 265-286. doi: 10.1016/j.yfrne.2010.12.001
436. Yadav, U.C.S. Regulation of NF- κ B-Induced Inflammatory Signaling by Lipid Peroxidation-Derived Aldehydes / U.C.S. Yadav, K.V. Ramana // *Oxid. Med. Cell. Longevity.* – 2013. – Vol. 2013, Article ID 690545, 11 pages. doi: 10.1155/2013/690545
437. Yellon, D.M. Myocardial reperfusion injury / D.M. Yellon, D.J. Hausenloy // *N. Engl. J. Med.* – 2007. – Vol. 357, № 11. – P. 1121-1135.
438. Yin, H. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis / H. Yin, L. Xu, N.A. Porter // *Chem. Rev.* – 2011. – Vol. 111, № 10. – P. 5944-5972.
439. Young, M.J. Mineralocorticoid receptors in the heart: lessons from cell-selective transgenic animals / M.J. Young, A.J. Rickard // *J. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 224. – P. R1-R13. doi:10.1530/JOE-14-0471
440. Zhang, J. Delta-, but not mu- and kappa- opioid receptor activation protects neocortical neurons from glutamate-induced excitotoxic injury / J. Zhang, G.G. Haddad, Y. Xia // *Brain Res.* – 2000. – Vol. 885. – P. 143-153.
441. Zhang, X.D. The role of p53 in cell metabolism / X.D. Zhang, Z.H. Qin, J. Wang // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2010. – Vol. 31, № 9. – P. 1208-1212.

- 442.Zhang, A. The roles of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and autophagy in aldosterone/ mineralocorticoid receptor-induced podocyte injury / A. Zhang // Labor. Investig. – 2015. – Vol. 95, № 12. – P. 1374-1386.
- 443.Zhu, H. Glial fibrillary acidic proteinexpressing cells in the neurogenic regions in normal and injured adult brains / H. Zhu, A. Dahlstrom // J. Neurosci. Res. – 2007. – Vol. 85, № 12. – P. 2783-2792. doi: 10.1002/jnr.21257.
- 444.Zivkovic, G. Regulation of AMPA receptor currents by mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels in anoxic turtle neurons / G. Zivkovic, L.T. Buck // J. Neurophysiol. – 2010. – Vol. 104, № 4. – P. 1913-1922.

Выражаю огромную благодарность и признательность за консультативную помощь в период выполнения диссертационного исследования главному научному сотруднику научно-исследовательской лаборатории «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный гуманитарно-педагогический университет» доктору биологических наук Шибковой Дарие Зайтдиновне.