

УДК 616.8.616.15

Оценка патофизиологических изменений организма крыс при острой гипобарической гипоксии по твердофазным структурам сыворотки крови и показателям мозгового кровотока

Шатохина С.Н.¹, Александрин В.В.¹, Монаков М.Ю.¹, Дудченко А.М.², Уварова Д.С.¹, Юркив В.А.³, Кубатиев А.А.¹, Шабалин В.Н.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

² ООО «Иммафарма».

123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18

³ Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а

Актуальность. Проблема гипоксии представляет важный аспект в медицине. При этом вопросы глубинного влияния гипоксии на организм остаются во многом не изученными. **Цель исследования** состояла в оценке патофизиологических изменений организма экспериментальных животных в условиях острой гипобарической гипоксии (ОГГ) с разных позиций: с позиций базового (молекулярного) уровня – по твердофазным структурам сыворотки крови, и с позиций центрального управления жизнедеятельностью организма – по показателям мозгового кровотока. **Методы.** Для опосредованной оценки данных о трансформации структурно-энергетических параметров белковых молекул сыворотки крови (СК) в условиях гипоксии использован метод клиновидной дегидратации биологических жидкостей. Для оценки мозгового кровотока в условиях гипоксии использован вейвлет-анализ колебаний церебрального кровотока. **Результаты.** Исследование действия ОГГ на крыс методом структурного анализа твердой фазы СК и методом регистрации локального мозгового кровотока показало разделение животных по уровню устойчивости к гипоксии на две группы. Первая группа при гипобарии равной высоте 11,5 км быстро входила в агональное состояние, однако при этом сохраняла значительную часть энергетических ресурсов белковых молекул, что устанавливалось по системной организации и локальным структурам твердой фазы сыворотки крови, а также подтверждалось достаточно высоким уровнем активности мозгового кровотока. Вторая группа животных, при тех же условиях гипоксии, входила в агональное состояние значительно позднее, при этом отмечалось значительные изменения структуры и почти полное истощение энергетических ресурсов белковых молекул, и выраженное падение показателей мозгового кровотока. Однако у животных второй группы после перевода их в условия нормобарической оксигенации наблюдалось более быстрое восстановление активности микроциркуляции. **Заключение.** В основе патофизиологических изменений организма экспериментальных животных при ОГГ лежит трансформация структур молекулярного уровня, наблюдаемых как по системной организации, так и локальным структурам твердой фазы СК. Экспериментальные животные имеют различный порог устойчивости по отношению к ОГГ.

Ключевые слова: острая гипобарическая гипоксия; твердая фаза сыворотки крови; метод клиновидной дегидратации; фацция; мозговой кровоток.

Для цитирования: Шатохина С.Н., Александрин В.В., Монаков М.Ю., Дудченко А.М., Уварова Д.С., Юркив В.А., Кубатиев А.А., Шабалин В.Н. Оценка патофизиологических изменений организма крыс при острой гипобарической гипоксии по твердофазным структурам сыворотки крови и показателям мозгового кровотока. *Патогенез*. 2018; 16(4): 58-65

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.58-65

Для корреспонденции: Шатохина Светлана Николаевна, e-mail: sv_n@list.ru

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 28.08.2018

Evaluation of pathophysiological changes induced by acute hypobaric hypoxia in rats by solid-phase structures of blood serum and cerebral blood flow

Shatokhina S. N.¹, Alexandrin V. V.¹, Monakov M.Yu.¹, Dudchenko A.M.², Uvarova D.S.¹, Yurkiv V.A.³, Kubatiev A.A.¹, Shabalin V.N.¹

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

² LLC Immapharma, Gamalei Str. 18, Moscow 123098, Russian Federation

³ Central Research Institute of Epidemiology, Novogireevskaya Str. 3a, Moscow 111123, Russian Federation

Background. The issue of hypoxia is an important aspect of medicine. However, the profound effect of hypoxia on the body remains largely unexplored. **The aim of the study** was to evaluate pathophysiological changes in experimental animals under the conditions of acute hypobaric hypoxia (AH) from different aspects: from the aspect of basic (molecular) level – by solid-phase structures of the blood serum (BS), and from the aspect of the central management of the body – by cerebral blood flow. **Methods.** Cuneiform dehydration of biological fluids was used for an indirect assessment of the transformation of structural and energy parameters of BS protein molecules in the hypoxic conditions. The wavelet analysis of cerebral blood flow oscillations was used to evaluate cerebral blood flow in hypoxia. **Results.** As a result of the study, the rats were divided into two groups based on their resistance to hypoxia. The first group faster developed the agonal state at a simulated altitude of 11.5 km. At the same time, these rats retained a significant part of the energy resources of protein molecules, which was established by the systemic organization and local structures of the BS solid phase and confirmed by a sufficiently high rate of cerebral blood flow. The second group of animals exposed to the same hypoxic conditions developed the agonal state much later and showed significant changes in the structure and almost complete depletion of energy resources of protein molecules associated with a marked drop of cerebral blood flow. However, the animals of the second group showed a faster recovery of microcirculation after return to the normobaric conditions. **Conclusion.** Pathophysiological changes in the rat body exposed to AH are based on transformation of molecular structures evident from both the systemic organization and local structures of the BS solid phase. The experimental animals have different thresholds of resistance to AH.

Key words: acute hypobaric hypoxia; solid phase of blood serum; method cuneiform dehydration; facia; cerebral blood flow.

For citation: Shatokhina S.N., Alexandrin V.V., Monakov M.Yu., Dudchenko A.M., Uvarova D.S., Yurkiv V.A., Kubatiev A.A., Shabalin V.N. [Evaluation of pathophysiological changes induced by acute hypobaric hypoxia in rats by solid-phase structures of blood serum and cerebral blood flow]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2018; 16(4): 58-65 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.58-65

For correspondence: Shatokhina Svetlana Nikolaevna, e-mail: sv_n@list.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 28.08.2018

Введение

Гипоксия является типовым патологическим процессом, который часто сопровождает трудовую деятельность человека в экстремальных условиях среды (водолазные работы, военная авиация, профессиональный спорт, альпинизм и др.). Эта проблема занимает значительное место и в различных сферах медицинской деятельности: в акушерской патологии и педиатрии [1], кардиологии [2], неврологии [3], а также при проведении экспериментальных исследований [4].

Несмотря на частое возникновение состояния гипоксии и широкий интерес к этой проблеме со стороны науки и практики, вопросы глубинного влияния гипоксии на организм остаются во многом не изученными. Одним из объективных методов оценки этого влияния может быть исследование твёрдофазных структур сыворотки крови (СК). В процессе жизнедеятельности организма при физиологических, экстремальных и патологических состояниях в биологических жидкостях (БЖ) постоянно происходят высокодинамичные конформационные превращения органических молекул и изменения характера взаимодействий всего пула молекулярных структур, растворённых в БЖ веществ [5]. Установлено, что определённые патологические отклонения вызывают специфические изменения в структуре органических молекул. В процессе перехода БЖ в твёрдую фазу в результате самоорганизации молекул растворённых веществ при формировании сухой пленки БЖ (фации) формируются соответствующие биокристаллические макроструктуры, по рисунку которых можно судить о степени декомпенсации организма, виде и характере течения патологического процесса, об эффективности принимаемых терапевтических воздействий [6, 7]. К настоящему времени изучены биокристаллические структуры при разных патологических состояниях [7-9]. Однако в усло-

виях острой гипобарической гипоксии (ОГГ) динамика биокристаллических структур не изучалась.

Главным органом, который страдает в первую очередь в условиях гипоксии, является головной мозг. Поэтому его состояние в постгипоксический период может служить индикатором тяжести патологического воздействия. Одним из новых методов изучения состояния головного мозга является вейвлет-анализ колебаний церебрального кровотока.

В связи с изложенным, цель исследования состояла в оценке патофизиологических изменений организма экспериментальных животных в условиях ОГГ с разных позиций: с позиций базового – молекулярного уровня (по твёрдофазным структурам сыворотки крови), и с позиций центрального управления жизнедеятельностью организма (по показателям мозгового кровотока).

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводили на белых половозрелых беспородных крысах-самцах массой 300-390 г. Животные содержались в условиях вивария на стандартном рационе *ad libitum*. Световой день длился с 7 до 19 часов. Протокол экспериментов был составлен в соответствии с требованием European Communities Council Resolves of 24 November 1986 (86/609/EEC). Опыты проведены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в Международных правилах обращения с экспериментальными животными (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; NIH Publication №85-23, 1996) и одобрены этическим комитетом ФГБНУ НИИОПП. В конце эксперимента крыса усыплялась передозировкой наркоза.

Животные в случайном порядке были поделены на две серии: первая серия ($n = 10$) – контроль, не подвергалась гипоксии. Вторая серия ($n = 15$) – находилась раз-

личное время в условиях ОГГ, соответствующей высоте 11,5 км над уровнем моря.

Протоколы экспериментов. Первая серия. Помещение контрольных крыс ($n = 10$) в стеклянную камеру (при нормальном атмосферном давлении) на 40 минут, наркотизация, взятие образцов крови, регистрация мозгового кровотока.

Вторая серия. Моделирование ОГГ понижением давления в камере, наркотизация, взятие образцов крови, регистрация мозгового кровотока ($n = 10$). Наркотизация, взятие образцов крови с помощью катетера, выход из наркоза, моделирование ОГГ понижением давления в камере, наркотизация, взятие образцов крови без регистрации мозгового кровотока ($n = 5$).

Моделирование острой гипобарической гипоксии. Для моделирования ОГГ бодрствующее животное помещали в трехлитровую стеклянную камеру, крышку закрывали герметически. Давление в камере соответствовало атмосферному (порядка 760 мм рт. ст.), внешняя температура +20-22°C. После помещения в камеру животное ложилось на дно и успокаивалось. Затем с помощью насоса со скоростью условного подъема на высоту 183 м/с из камеры откачивали воздух для создания уровня разрежения, соответствующего высоте 11,5 км над уровнем моря (барометрическое давление воздуха – 160 мм рт.ст, парциальное давление кислорода ~ 32 мм рт.ст.). Степень разрежения воздуха в камере отслеживали авиационным высотомером.

Поведенческие и физиологические изменения гипоксического генеза начинались после достижения «высоты 2 км» (парциальное давление кислорода ~ 120 мм рт. ст). Развивалось психомоторное возбуждение: животные становились на задние лапы с опорой на стенки камеры передними лапами, совершая стереотипные круговые движения по периметру, иногда бросаясь на стенки. Отмечались признаки дезориентации в пространстве, акты дефекации и мочеиспускания. Частота дыхательных движений увеличивалась в среднем с 60 до 70 в минуту.

После «подъема» на «высоту 5 км» у животных развивался гипоксический наркоз (парциальное давление кислорода ~ 90 мм рт.ст). Двигательная активность прекращалась, животные ложились набок, поднимали голову и отводили ее назад. Дыхательные движения оставались ритмичными, с хорошей амплитудой, в основном, без участия вспомогательных мышц.

С «высоты 7 км» (парциальное давление кислорода ~ 70 мм рт.ст) до «высоты 11,5 км» у животных развивалось агональное состояние: дыхание становилось редким (гаспинг), в акте вдоха принимали участие мышцы шеи, отмечались терминальные броски. После появления второго агонального вдоха (ВAB) в камеру быстро подавался воздух, и животное извлекалось наружу. При выходе из гипоксического наркоза наблюдались генерализованные клонические судороги (дрожание и подергивание конечностей), восстановление дыхания. Через несколько минут животное по внешним признакам возвращалось к физиологическому статусу.

Манипуляции по забору крови. Крыс наркотизировали внутрибрюшинным введением хлоралгидрата (300 мг/кг). Достаточный уровень анестезии определя-

ли по отсутствию реакции вибрисс на болевой стимул. Ректальная температура животного была на уровне 37°C. Катетеризировали бедренную артерию для забора образцов крови и измерения системного артериального давления (АД).

Спектральный вейвлет-анализ колебаний мозгового кровотока. Голову животного прочно закрепляли в стереотаксической рамке. Череп обнажали посредством срединного надреза. С помощью стоматологической дрели в левой теменной кости делали отверстие диаметром 1 мм с сохранением твердой мозговой оболочки интактной. Использовались следующие стереотаксические координаты от брегмы и средней линии соответственно – 5 мм и 3 мм. Микроманипулятором в отверстие вводили датчик лазер-доплера (диаметр 1 мм) до касания твердой мозговой оболочки [10].

Регистрацию локального мозгового кровотока осуществляли лазерным доплеровским монитором ЛАКК-02 (НПП «ЛАЗМА», Россия) посредством контактного датчика в красном канале лазерного излучения (длина волны 0,63 мкм) в условиях температуры окружающей среды +20-21°C через 60 мин после окончания хирургических процедур. Величину мозгового кровотока оценивали в перфузионных единицах.

Для спектрального вейвлет-анализа колебаний мозгового кровотока использовали записи длительностью 480 с. Оценку колебательной составляющей общей перфузии с проводили с помощью вейвлет-анализа (программа 2.2.0.507, НПП «Лазма», Россия). Определяли амплитуды колебаний кровотока в пяти диапазонах частот, соответствующих эндотелиальным (0,01-0,04 Гц), нейрогенным (0,04-0,15 Гц), миогенным (0,15-0,4 Гц), дыхательным (0,4-2,0 Гц) и кардиальным (2,0-4,0 Гц) составляющим сосудистого тонуса [10].

Исследование структур сыворотки крови методом клиновидной дегидратации. Кровь для исследования структур твердой фазы СК забирали в объеме по 0,7 мл в пробирки Эппендорфа. После свертывания крови сыворотку отделяли от сгустка и переносили в другую пробирку. У всех крыс первой серии (контрольная группа) кровь брали дважды (до помещения в камеру и после извлечения из нее). У 10 крыс второй серии (с измерением амплитуды мозгового кровотока) кровь брали однократно – после гипоксии, а у 5 крыс второй серии (без определения мозгового кровотока) – дважды, до начала эксперимента и после его окончания.

Каждый образец СК всех экспериментальных животных исследовали с суточным временным разрывом: первичный образец (полученный сразу после проведения эксперимента) и суточный образец (хранившийся при температуре +5°C), т.е. в стадии прекращения активных биохимических процессов в экстракорпоральной СК.

Метод клиновидной дегидратации состоял в следующем: на тест-карту ТК4 диагностического набора «Литос-Система» (регистрационное удостоверение № ФСР 2008/02488 от 29.04.2008), расположенную строго горизонтально, наносили каплю СК в объеме 20 мкл; капля высушивалась в специальной камере при температуре + 20-25°C с относительной влажностью 55-60% при медленном ламинарном движении окружающего возду-

ха. Продолжительность периода высыхания составляла 18–24 часа. Исследование структурообразующих элементов дегидратированной капли СК проводилось с помощью стереомикроскопа MZ12 фирмы «Leica» и видеокамеры «Leica DFC 490».

Сущность метода клиновидной дегидратации заключается в том, что при испарении воды в капле БЖ, лежащей на плоскости, происходит системное распределение растворенных в ней веществ по площади в соответствии с их осмотической активностью, гидрофильностью, молекулярным весом, агрегатным состоянием и другими физико-химическими параметрами. В результате биофизических взаимодействий молекул и их микроагрегатов при полном испарении воды формируется сухая структурированная плёнка – фация [8].

При анализе структурообразующих элементов фаций первичных и суточных образцов СК оценивали: системную организацию – общую картину изображения и оценку расположения отдельных структур по площади фации (микроскопия в проходящем свете, при увеличении $\times 15$); локальную организацию – структурные маркеры различных патофизиологических состояний (микроскопия в проходящем свете, при увеличении $\times 60$).

В процессе исследования фаций СК экспериментальных животных мы выявляли следующие, описанные нами ранее, структурные маркеры [7]:

1. Маркеры физиологического состояния животных – симметрия радиальных трещин, сформированные конкреции (округлые, хорошо очерченные образования без внутренних структурных элементов);
2. Маркеры стрессорной реакции – воронкообразные, образованные круговыми трещинами, структуры;
3. Маркеры агонального состояния – многочисленные трёхлучевые трещины различной величины (образуются в результате застоя в микроциркуляторном русле);
4. Маркер воспаления – многочисленные языковые образования без внутренних структурных элементов;
5. Маркер активации микроциркуляторного русла – многочисленные штриховые трещины.

Результаты исследований фиксировали в виде цифровых компьютерных изображений и сравнивали структуры фаций СК до начала эксперимента и после его окончания.

Данные маркерных структур фаций СК сопоставляли с показателями мозгового кровотока. Статистическую обработку результатов осуществляли при помощи пакетов программы Biostat для Windows 3.1. Данные представлены в таблице в виде медианы и квартилей (25% и 75%). При сравнении характеристик массивов данных применялись критерии Манна-Уитни и Хи-квадрат. Результаты признавались значимыми при допустимой вероятности ошибки менее 0,05.

Результаты исследования

Проведенные исследования показали, что интегральная картина фаций первичных и суточных образцов СК животных первой серии (контроль) имела однотипную системную организацию, которая характеризовалась ради-

Фации первичных образцов СК Фации суточных образцов СК

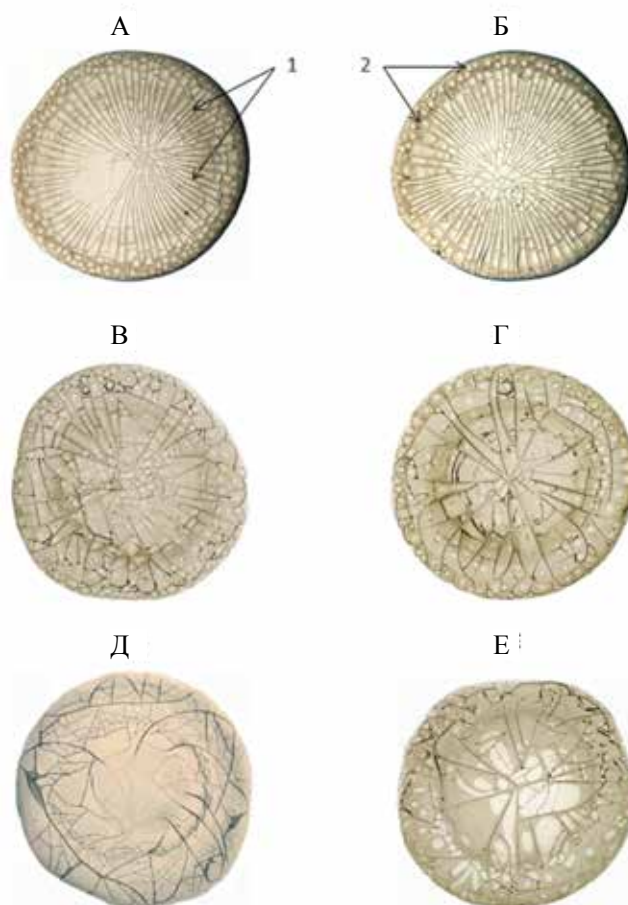


Рис. 1. Фации сыворотки крови крыс: А, Б – первой серии, контроль; В-Е – второй серии, после ОГГ. А, Б – радиальная симметрия основных трещин: стрелки 1; сформированные конкреции: стрелка 2. В, Г – с появлением ВАВ через 12 минут (крыса из первой группы). Д, Е – с появлением ВАВ через 30 минут (крыса из второй группы). Ув. $\times 15$.

альной или частично-радиальной симметрией основных трещин и сформированными конкрециями (рис. 1, А, Б). Эти признаки свидетельствовали о гармоничном взаимодействии молекулярных структур растворённых веществ в СК, что приводило к равномерным разрывам органической плёнки в результате одинаковой плотности свёртывания белков и построению системной структуры фации по типу «ромашки». Такая картина указывала на физиологическое состояние организма животных [11]. Мозговой кровотока и спектр его колебаний соответствовали норме [12].

После ОГГ: все 15 крыс второй серии благополучно пережили «подъем» на высоту 11,5 км, однако по времени появления ВАВ их можно было разделить на две группы: первую (9 крыс) – ВАВ возникала в интервале от 8 до 19 минут пребывания на этой высоте, вторую (6 крыс) – ВАВ проявлялась в интервале от 20 до 40 минут. При этом в состав шести крыс второй группы вошли четыре крысы с определением мозгового кровотока и две – без определения мозгового кровотока.

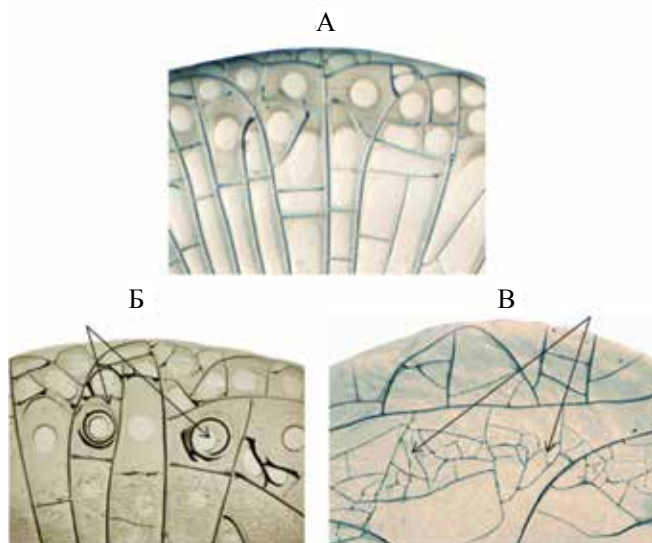


Рис. 2. Фрагменты фаций первичных образцов СК крыс. А – физиологические структуры (контроль). Б – маркер стресса (стрелки) в первой группе после ОГГ. В – маркер агонального состояния (хаотичное построение фации; сеть трёхлучевых трещин в промежуточной зоне фации – стрелки) во второй группе после ОГГ. Ув × 60

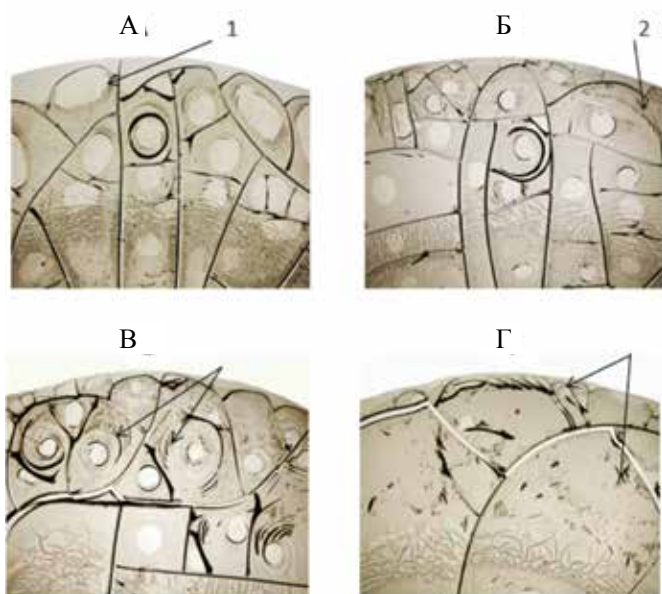


Рис. 3. Фрагменты фаций суточных образцов СК крыс после ОГГ. А, Б – крысы первой группы, 1: слабовыраженные каскады штриховых трещин; 2: языковые поля. В – крысы второй группы, многочисленные спиралевидные трещины и языковые поля (стрелки). Г – крысы второй группы, каскады штриховых трещин и гребешковых структур на фоне языковых полей (стрелки). Ув × 60.

Установлено, что системная организация фаций первичных образцов СК крыс первой группы частично сохраняла симметричное строение (рис. 1, В), в то время как у животных второй группы отмечалось хаотичное структуропостроение (рис. 1, Д), что свидетельствовало о глубоких нарушениях гомеостаза (энергетическое истощение белковых молекул).

Системная организация фаций суточных образцов СК всех 15 крыс характеризовалась частично-радиальной

симметрией. Это указывало на то, что в СК после суточной выдержки появлялись признаки, указывающие на восстановление структурной организации белковых молекул в экстракорпоральной биожидкости (рис. 1, Г, Е).

Обращает на себя внимание, что количество основных трещин, образующих радиальные сектора в фациях первичных образцов СК крыс после ВАВ, уменьшалось по сравнению с их числом до начала эксперимента: у первой группы – в 2-3 раза, а у второй группы – в 7-8 раз. Это указывает на соответствующее снижение энергетической активности белков по критерию плотности их свёртывания.

Локальными морфологическими маркерами, характеризующими реакцию организма при ОГГ в фациях первичных образцов СК у крыс, являлись:

1) в первой группе – маркеры стресса в виде единичных, четко выраженных спиральных трещин, окружающих конкреции (рис. 2, Б);

2) во второй группе – маркеры агонального состояния в виде сети трёхлучевых трещин в промежуточной зоне (показатель застоя в капиллярном русле) при отсутствии физиологических структурных элементов – радиальных трещин и конкреций (рис. 2, В).

Локальные морфологические маркеры, характеризующие реакцию организма на ОГГ в фациях суточных образцов СК, были представлены:

1) в первой группе крыс – слабовыраженными маркерами активации микроциркуляции в ткани головного мозга в виде каскада штриховых трещин и маркерами реактивного воспаления – языковыми полями (рис. 3, А, Б); эти маркеры были описаны нами ранее при экспериментальной ишемии средней тяжести головного мозга крыс в результате временной билатеральной окклюзии общих сонных артерий [13];

2) во второй группе крыс – маркер стресса (спиралевидные трещины) с высокой выраженностью реактивного воспаления в виде «языковых полей» и маркер высокой активации микроциркуляции в ткани головного мозга в виде каскада штриховых и гребешковых трещин (рис. 3, В, Г). Эти маркеры были описаны нами ранее [7].

Данные об изменениях структуры фаций СК крыс в процессе эксперимента представлены в табл. 1.

Данные табл. 1 указывают на выраженные различия в защитно-приспособительных реакциях организма между первой и второй группами животных на гипобарическую гипоксию.

При параллельном исследовании мозгового кровотока наблюдались отчётливые различия показателей между двумя группами экспериментальных животных (табл. 2).

Мозговой кровоток у животных первой группы после завершения гипоксического воздействия не отличалась от контрольных показателей (табл. 2). В то же время амплитуда колебаний в эндотелиальном, нейрогенном и/или миогенном диапазонах смещалась в сторону значительного увеличения, что свидетельствует о том, что для достижения достаточного уровня кровотока были задействованы «внутренние» резервы активной регуляции сосудистого тонуса. У животных второй группы кровоток снижался в два раза (табл. 2), что могло свидетельствовать об отёчных явлениях, вызванных гипокси-

Показатели структурной организации фаций сыворотки крови крыс при острой гипобарической гипоксии.

Патологические структуры фаций сыворотки крови ($n = 15$)	Результаты исследования структуры фаций СК крыс второй серии		Групповые сравнения по фациям (Хи-квадрат): первичных образцов – p_1 ; суточных образцов – p_2
	Первая группа ($n = 9$)	Вторая группа ($n = 6$)	
	исход./сут.	исход./сут.	
Нарушение радиальной (частично-радиальной) симметрии трещин	0/0	6/0	$p_1 < 0,05$
Несформированные конкреции	0/0	6/0	$p_1 < 0,05$
Маркер стресса без воспалительного компонента	9/0	0/0	$p_1 < 0,05$
Маркер стресса с воспалительным компонентом	0/0	0/6	$p_2 < 0,05$
Маркер агонального состояния	0/0	6/0	$p_1 < 0,05$
Слабовыраженный маркер активации микроциркуляторного русла	0/9	0/0	$p_2 < 0,05$
Выраженный маркер активации микроциркуляторного русла	0/0	0/6	$p_2 < 0,05$

ей в неокортексе. Наблюдали также снижения амплитуды колебаний в эндотелиальном, нейрогенном и/или миогенном диапазонах, что свидетельствует об истощении резервов регуляции сосудистого тонуса.

Обсуждение

В настоящее время патогенез ОГГ с энергетических позиций большинством исследователей трактуется следующим образом: снижение парциального давления кислорода в крови нарушает биологическое окисление тканей и вводит организм в состояние энергодефицита [14, 15]. Считается, что сущность обмена энергии в живом организме состоит в том, что энергия, заключенная в молекулах углеводов, жиров и белков, освобождается при их расщеплении и используется для функционирования клеток. При этом энергия расщепления может накапливаться в химических соединениях, называемых макроэргами (главным из которых является АТФ). Дефицит кислорода приводит к нарушению метаболизма белков, в частности, к угнетению их синтеза и ускорению распада. При этом в представленной картине патогенеза анализ структурных и энергетических проявлений гипоксии останавливается на клеточном уровне, но не достигает молекулярного уровня структурной и энергетической организации живых тканей. Структурные и энергетические изменения белковых молекул остаются недоступными для аналитиков ввиду отсутствия соответствующих методов исследования. Данную проблему в определённой части решает использование разработанной нами оригинальной технологии исследования твёрдофазных структур БЖ [8].

Полученные результаты свидетельствуют о значительных изменениях структурно-энергетических параметров молекул СК экспериментальных животных в ответ на ОГГ. Показано, что до гипоксии системный перевод СК животных в твёрдую фазу формирует фации, структура которых характеризуется радиальной или частично-радиальной симметрией основных трещин и сформированными конкрециями, что указывало на гармоничные энергетические взаимоотношения молекул растворённых в СК веществ. Энергетическая сбалансированность молекул обеспечивала одинаковую свёртываемость в процессе дегидратации капли и, как результат, вызывала равномерные разрывы высыхающей

Таблица 2

Мозговой кровотока и вейвлет-анализ его колебаний у крыс в контроле и после острой гипобарической гипоксии. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха.

Показатель	Величина показателя		
	Контроль ($n = 10$)	Гипоксия первая группа ($n = 6$)	Гипоксия вторая группа ($n = 4$)
Системное АД, мм рт.ст	84,0 (80,0; 88,5)	82,5 (80,5; 85,35)	85,0 (82,0; 85,3)
Мозговой кровоток, перф. ед.	18,5 (15,3; 21,5)	19,5 (18,2; 22,5)	6,5 (3,7; 9,8) $p = 0,007$
Эндотелиальный ритм, перф. ед.	0,22 (0,18; 0,29)	0,62 (0,55; 0,70) $p = 0,001$	0,10 (0,10; 0,11) $p = 0,036$
Нейрогенный ритм, перф. ед.	0,21 (0,18; 0,28)	0,53 (0,28; 0,75) $p = 0,026$	0,14 (0,12; 0,15) $p = 0,019$
Миогенный ритм, перф. ед.	0,21 (0,20; 0,23)	0,39 (0,31; 0,44) $p = 0,006$	0,13 (0,11; 0,16) $p = 0,007$
Дыхательный ритм, перф. ед.	0,40 (0,35; 0,50)	0,6 (0,53; 0,60) $p = 0,033$	0,37 (0,29; 1,20)
Кардиогенный ритм, перф. ед.	0,31 (0,30; 0,39)	0,51 (0,36; 0,64)	0,37 (0,22; 0,67)

Примечание: p – оценка достоверности различий по сравнению с контролем по критерию Манна-Уитни.

плёнки с последующим построением структуры фации по типу «ромашки». Такая картина указывала на физиологическое состояние организма животных [11]. Данные мозгового кровотока и спектр его колебаний также соответствовали норме [12].

После ОГГ системная организация фаций первичных образцов СК крыс первой группы сохраняла частично симметричное строение, в то время как у животных второй группы отмечалось хаотичное структуропостроение. Поскольку энергетика молекул определяется их структурой и проявляется в колебательных движениях, полученные результаты мы объясняем значительными различиями в степени структурных и энергетических нарушений молекулярного уровня у животных первой и второй групп. А именно, адаптационные механизмы животных с низкой устойчивостью к ОГГ (при кисло-

родном дефиците на уровне эксперимента) не допускают значительных структурных изменений белковых и других органических молекул СК, в то время как в СК животных с высокой устойчивостью к ОГГ развиваются выраженные молекулярные структурные изменения и глубокое энергетическое истощение.

Локальные морфологические маркеры в фациях СК у крыс с низкой устойчивостью к ОГГ были представлены слабовыраженными структурами стресса, активации микроциркуляции в ткани головного мозга и реактивного воспаления. У животных с высокой устойчивостью к ОГГ в ответ на гипоксию в фациях первичных образцов СК формировались маркеры агонального состояния, а в фациях суточных образцов СК – отчётливые маркеры стресса с высокой выраженностью реактивного воспаления и маркеры активации микроциркуляции в ткани головного мозга. То есть, в результате различий по молекулярной структурно-энергетической динамике, первая и вторая группы животных показывают разную резистентность к гипоксии. Так, у животных первой группы ВАВ наблюдался на 8-19 минутах пребывания в условиях гипоксии, при этом животные достаточно хорошо сохраняют энергетические резервы своих биологических структур. Даже в состоянии ВАВ они удерживают физиологические параметры фаций СК: отсутствует грубое нарушение радиальной симметрии, сохраняются нормальные конкреции, лабильный маркер стресса появляется в фациях первичных и значительно ослабевает в фациях суточных образцов СК, отмечаются слабовыраженные структурные признаки реактивного воспаления, признаки застойных явлений в микроциркуляторном русле не выявляются.

В то же время животные второй группы показывают высокую устойчивость к гипоксии (ВАВ наблюдался на 20-40 минутах пребывания в условиях гипоксии). Однако они утрачивают физиологическую структуру системной организации фаций первичных образцов СК (нарушается радиальная симметрия трещин, появляются недооформленные конкреции). То есть, структура фаций СК крыс второй группы свидетельствует о том, что их высокая резистентность к гипоксии связана со способностью более полного использования энергетических ресурсов своих биологических структур, вплоть до их полного истощения. Вместе с тем, животные второй группы, в отличие от первой, по характеру структуры фаций суточных образцов СК демонстрируют «взрывную» способность к восстановлению активности микроциркуляторного русла, сопряжённую с выраженной стрессовой реакцией и признаками реактивного воспаления.

Сравнение показателей мозгового кровотока, эндотелиального и нейрогенного ритмов головного мозга у крыс первой и второй групп животных, подвергшихся ОГГ, свидетельствует об их значительно более глубоком угнетении у крыс второй группы. Это можно также объяснить различиями в степени нарушения структурных и энергетических изменений молекулярного уровня у этих групп животных.

Выводы

В основе патофизиологических изменений организма экспериментальных животных при ОГГ лежит транс-

формация структур молекулярного уровня, наблюдаемых как по системной организации, так и локальным структурам твёрдой фазы СК.

Установлено, что экспериментальные животные имеют различный порог устойчивости по отношению к ОГГ.

Животные с низкой устойчивостью к ОГГ не способны полностью мобилизовать структурно-энергетические параметры белковых молекул СК и сохраняют их на физиологическом уровне, что согласуется с показателями интенсивности мозгового кровотока.

Животные с высокой устойчивостью к ОГГ утрачивают физиологическую структуру и энергетику белковых молекул СК; по-видимому, их высокая резистентность к гипоксии связана со способностью более полно использовать энергетические ресурсы своих биологических структур, вплоть до их полного истощения. Данное предположение подтверждается значительным падением интенсивности мозгового кровотока под воздействием гипоксии у этих животных.

Животные с высокой устойчивостью к ОГГ в отличие от животных с низкой устойчивостью способны к более быстрому («взрывному») восстановлению активности микроциркуляторного русла, сопряжённой с выраженной стрессовой реакцией и признаками реактивного воспаления, что указывало на особые защитно-приспособительные механизмы, обеспечивающие быстрый выход этой группы животных из состояния структурно-энергетического коллапса.

Список литературы

1. Борукаева И.Х., Абазова З.Х., Кумыков В.К. Влияние кратковременной гипоксии на биоэлектрическую активность головного мозга детей, подростков и юношей. *Фундаментальные исследования*. 2015; 4(3): 466-471.
2. Куташов В.А., Скороходов А.П., Хаханова О.Н. К вопросу лечения кардиоэмболических инсультов в острый период. *Центральный научный вестник*. 2016; 1 (14): 33-40.
3. Мехбалиева Э.Д. Первичные и вторичные реакции нервной ткани на нехватку кислорода и их отражение в сложно системных функциях мозга. *Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки*. 2014; 4: 32-41.
4. Mackensen G.B., Nellgard B., Kudo M., Sheng H., Pearlstein R.D., Warner D.S., Periischemic cerebral blood flow (CBF) does not explain beneficial effects of isoflurane on outcome from near-complete forebrain ischemia in rats. *Anesthesiology*. 2000; 93 (4): 1102-1106.
5. Ямскова В. П., Краснов М. С., Ямсков И. А. *Новые экспериментальные и теоретические аспекты в биорегуляции. Механизм действия мембранотропных гомеостатических тканеспецифических биорегуляторов*. Saarbrücken: Lambert Academic Publishing, 2012. 136 с.
6. Шатохина С.Н., Шабалин В.Н., Уварова Д.С. Особенности структуры перитонеального экссудата в ранней диагностике спаечной болезни у детей с аппендикулярным перитонитом. *Патогенез*. 2015; 13 (2): 39-41.
7. Шатохина С.Н., Шабалин В.Н. *Атлас структур неклочных тканей человека в норме и патологии. Том 2. Морфологические структуры сыворотки крови*. Тверь: Триада. 2013.
8. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. *Морфология биологических жидкостей человека*. М.: Хризостом, 2001.
9. Елькин Ю.Е. Автоволновые процессы. *Математическая биология и биоинформатика*. 2006; 1 (1-2): 27-40.
10. Александрин В.В. Динамика вейвлет-спектра мозгового кровотока при дозированной кровопотере. *Патогенез*. 2014; 12(1): 55-58.
11. Юшков Б.Г., Черешнев В.А. *Понятие нормы в физиологии (физиологические константы лабораторных животных)*. М.: НП «Центр стратегического партнерства». 2016.

12. Aleksandrin V.V., Ivanov A.V., Virus E.D., Bulgakova P.O., Kubatiev A.A. Application of wavelet analysis to detect dysfunction in cerebral bloodflow autoregulation during experimental hyperhomocysteinaemia. *Laser Med. Sci.* 2018; 33(6): 1327-1333. DOI: 10.1007/s10103-018-2485-x
13. Шагохина С.Н., Александрин В.В., Кубатиев А.А., Шабалин В.Н. Структуры сыворотки крови в интегральной оценке патофизиологических изменений при экспериментальной ишемии головного мозга. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2016; 60(4): 169-174.
14. Сиротинин Н.Н. *Эволюция резистентности и реактивности организма.* М.: Медицина, 1981.
15. Лукьянова Л.Д., Кирова Ю.И. Влияние гипоксического preconditionирования на свободнорадикальные процессы в тканях крыс с различной толерантностью к гипоксии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2011; 151(3): 263-268.

References

1. Borukaeva I.Kh., Abazova Z.Kh., Kumykov V.K. [Influence of short time hypoxia on bioelectric activity of brain of children, adolescents and youth]. *Fundamental'nye issledovaniya [Basic research].* 2015; 4(3): 466-471. (in Russian)
2. Kutashov V.A., Skorokhodov A.P., Khakhanova O.N. [To the question of treatment of cardioembolic insults during beginning period]. *Tsentral'nyi nauchnyi vestnik [Central Scientific Bulletin].* 2016; 1(14): 33-40. (in Russian)
3. Mekhbalieva E.D. [The first and second reactions of nervous matter on hypoxic and its reflection in complex systemic brain functions]. *Vestnik Moskovskogo gosudarstvennogo oblastnogo universiteta. Seriya: Estestvennye nauki [Bulletin of Moscow State Regional University. Series: Natural Sciences].* 2014; (4): 32-41. (in Russian)
4. Mackensen G.B., Nellgard B., Kudo M., Sheng H., Pearlstein R.D., Warner D.S., Periischemic cerebral blood flow (CBF) does not explain beneficial effects of isoflurane on outcome from near-complete forebrain ischemia in rats. *Anesthesiology.* 2000; 93 (4): 1102-1106.
5. Yamskova V.P., Krasnov M.S., Yamskov I.A. [New experimental and theoretic aspects in bioregulation. The mechanism of action mem-

- branotropic hemostatic matter specific bioregulations]. Saarbrücken, Lambert Academic Publishing, 2012. 136 p. (in Russian)
6. Shatokhina S.N., Shabalin V.N., Uvarova D.S. [Features of the structure of peritoneal exudate in the early diagnosis of adhesions in children with appendicular peritonitis]. *Patogenez [Pathogenesis].* 2015; 13 (2): 39-41. (in Russian)
7. Shatokhina S.N., Shabalin V.N. [Atlas of the structures of non-cellular human tissue in health and disease. Volume 2. Morphological structure of serum]. Tver', Triada. 2013. (in Russian)
8. Shabalin V.N., Shatokhina S.N. [The morphology of human biological fluids]. М.: Khristostom, 2001. (in Russian)
9. El'kin Yu.E. [Autowave processes]. *Matematicheskaya biologiya i bioinformatika [Mathematical Biology and Bioinformatics].* 2006; 1(1): 27-40. (In Russian)
10. Aleksandrin V.V. [The dynamic of wavelet transform of cerebral blood flow during gradual hemorrhage]. *Patogenez [Pathogenesis].* 2014; 12 (1): 55-58. (in Russian)
11. Yushkov B.G., Chereshev V.A. [Norma in physiology (physiologic constants of laboratory animals)]. М.: NP «Tsentr strategicheskogo partnerstva». 2016. (in Russian)
12. Aleksandrin V.V., Ivanov A.V., Virus E.D., Bulgakova P.O., Kubatiev A.A. Application of wavelet analysis to detect dysfunction in cerebral bloodflow autoregulation during experimental hyperhomocysteinaemia. *Laser Med. Sci.* 2018; 33(6): 1327-1333. DOI: 10.1007/s10103-018-2485-x
13. Shatokhina S.N., Aleksandrin V.V., Kubatiev A.A., Shabalin V.N. [Blood serum structures integrated assessment of pathophysiological changes in experimental cerebral ischemia]. *Patologicheskaya fiziologiya i ehksperimental'naya terapiya [Pathological physiology and experimental therapy].* 2016; 60(4): 169-174. (in Russian)
14. Sirotinin N.N. [Evolution of resistance and reactivity of the organism]. М.: Meditsina, 1981. (in Russian)
15. Luk'yanova L.D., Kirova Yu.I. [Influence of hypoxic preconditioning on free radical processes in tissues of rats with different tolerance to hypoxia]. *Byulleten' ehksperimental'noi biologii i mediciny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine].* 2011; 151 (3): 263-268. (in Russian)

Сведения об авторах:

Шагохина Светлана Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией биокристалломики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Александрин Валерий Васильевич – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции агрегатного состояния крови Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Монаков Михаил Юрьевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональной ангиопротеомики и метаболомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Дудченко Александр Максимович – доктор медицинских наук, Генеральный директор ООО «Иммафарма»

Уварова Дарья Сергеевна – старший научный сотрудник лаборатории биокристалломики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Юркив Василий Андреевич – доктор медицинских наук, академик РАН, главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Кубатиев Аслан Амирханович – доктор медицинских наук, академик РАН, научный руководитель Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Шабалин Владимир Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник лаборатории биокристалломики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»