

УДК 612.466.23:616-001.8-092.9

## ПРОЦЕССЫ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ В ПОЧКАХ ПОСЛЕ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ У КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ

<sup>1</sup>Байбурина Г.А., <sup>1</sup>Нургалева Е.А., <sup>2</sup>Шибкова Д.З., <sup>3</sup>Башкатов С.А.

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Уфа, e-mail: bsmunauka@mail.ru;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Челябинский государственный педагогический университет»,

Челябинск, e-mail: postbox@cspu.ru;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», Уфа, e-mail: info@bsu.bashedu.ru

Целью работы явилось изучение закономерностей перекисного окисления липидов в почках в длительной динамике после ишемического повреждения, вызванного остановкой системного кровообращения, у крыс с различной резистентностью к гипоксии. Эксперимент выполнен на самцах неинбредных белых крыс, разделенных на 4 группы по устойчивости к гипоксии. 5-минутную аноксию моделировали под общим эфирным наркозом интраторакальным пережатием сосудистого пучка сердца с последующей реанимацией. Период наблюдения составлял 35 дней. В гомогенатах тканей почек определяли содержание глутатиона восстановленного, каталазы, ТБК-реагирующих продуктов. Установлено, что развитие и исход ишемического повреждения почек обусловлены индивидуальными физиолого-биохимическими характеристиками животных. У крыс высокоустойчивых и среднеустойчивых к гипоксии отмечались исходно высокие показатели антиоксидантной защиты при относительно низкой активности ПОЛ. У животных неустойчивых на фоне недостаточности антиоксидантной защиты наблюдалась высокая активность процессов липопероксидации.

**Ключевые слова:** почки, гипоксия, ишемия, реперфузия, крысы, перекисное окисление липидов, резистентность к гипоксии

## LIPID PEROXIDATION IN KIDNEY AFTER ISCHEMIA-REPERFUSION IN RATS WITH DIFFERENT RESISTANCE TO HYPOXIA

<sup>1</sup>Bayburina G.A., <sup>1</sup>Nurgaleeva E.A., <sup>2</sup>Shibkova D.Z., <sup>3</sup>Bashkatov S.A.

<sup>1</sup>Bashkir State medical University, Ufa, e-mail: bsmunauka@mail.ru;

<sup>2</sup>Chelyabinsk State Pedagogical University, Chelyabinsk, e-mail: postbox@cspu.ru;

<sup>3</sup>Bashkir State University, Ufa, e-mail: info@bsu.bashedu.ru

The aim of the work was to study the patterns of lipid peroxidation in the kidney in the long dynamics after ischemic damage caused by stopping general blood circulation of rats with different resistance to hypoxia. The experiment was performed on male noninbred albino rats, which were divided into 4 groups of resistance to hypoxia. 5-minute anoxia was simulated under general ether anesthesia by intratoracal vascular clamping beam of heart followed by resuscitation. The observation period was 35 days. In kidney tissue homogenates the content of the restored glutathione was determined, catalase, TBA-reactive products. It was found that the development and outcome of ischemic renal injury was caused by individual physiological and biochemical characteristics of animals. In high-stable and middle-stable rats initially high levels of antioxidant protection at relatively low activity of lipid peroxidation were observed. In animals unstable in deficiency of antioxidant defense high activity of lipid peroxidation was observed.

**Keywords:** kidney, renal, hypoxia, ischemia, reperfusion, rats, lipid peroxidation, resistance to hypoxia

В настоящее время важной проблемой физиологии адаптационных процессов является исследование диапазона генетически детерминированных физиолого-биохимических реакций организма в ответ на экстремальные воздействия. Известно, что эволюционно сформировавшаяся норма реакции на гипоксию отличается даже у животных одного вида и пола, что находит отражение в особенностях индивидуальной резистентности к гипоксии. Адаптивно-компенсаторный ответ на острую гипоксию и его нейрогуморальная регуляция у животных с различной устойчивостью к гипоксии различаются в широком диапазоне параме-

тров, которые сохраняются на системном, тканевом, клеточном и субклеточном уровнях и, безусловно, могут определять выживаемость животных после тяжелой острой гипоксии/аноксии и восстановление функций [4, 5]. Хорошо известно, что чувствительность животных к гипоксии зависит от соотношения перекисное окисление липидов/антиоксидантные системы в мозге [6], сердце, печени [3]. В то же время многие вопросы тканеспецифичности ответа системы про-и антиоксидантов на экстремальные воздействия остаются открытыми.

Почки, наряду с сердцем и головным мозгом, наиболее уязвимы для повреждающих

факторов ишемии и реперфузии [10, 12], а нарушение их функций лежит в основе вторичных нарушений кровообращения, водно-солевого обмена и интоксикации организма [8, 11]. Однако механизмы, определяющие особенности липопероксидации и устойчивости к ишемическим повреждениям почек, вызванным остановкой системного кровообращения, требуют дальнейшего изучения.

**Цель работы** – выявление закономерностей процессов перекисного окисления липидов в почках у крыс с различной резистентностью к гипоксии в длительной динамике после ишемического повреждения, вызванного остановкой системного кровообращения.

### Материалы и методы исследований

Серия экспериментов выполнена на 320 половозрелых самцах неинбредных белых крыс массой 150–180 г, содержавшихся в виварии на стандартном рационе и свободном доступе к воде, после предварительного тестирования на резистентность к гипоксии [1]. По итогам тестирования все животные были разделены на 4 группы – неустойчивые (HeУ), низкоустойчивые (НизУ), среднеустойчивые (СУ) и высокоустойчивые к гипоксии (ВУ). Группы включали по 70 опытных и 10 контрольных крыс. Через неделю после тестирования под общим эфирным наркозом моделировали 5-минутную аноксию интраторакальным пережатием сосудистого пучка сердца по методу В.Г. Корпачева (1982). Реанимация проводилась с помощью наружного массажа сердца и искусственной вентиляции легких. Контрольная группа крыс после тестирования на устойчивость к гипоксии подвергалась эфирному наркозу без моделирования аноксии. Период наблюдения составлял 35 дней.

В гомогенатах тканей почек определяли содержание глутатиона восстановленного (Patterson et al., в модификации Ф.Е. Путилиной, 1982), каталазы (М.А. Королюк, 1988), ТБК-реагирующих продуктов (ТБК-рп) [7].

Результаты статистически обрабатывали параметрическими методами с вычислением средних значений ( $m$ ), стандартных отклонений ( $n$ ), достоверность различий средних оценивали по  $t$ -критерию Стьюдента, отношения между независимыми и зависимыми переменными исследовали с помощью дисперсионного анализа.

### Результаты исследований и их обсуждение

До моделирования аноксии крысы с разной устойчивостью к гипоксии достоверно отличались по уровню функционирования защитных систем в клетках тканей почек. Так, активность каталазы и содержание восстановленного глутатиона были выше у ВУ животных в сравнении со СУ соответственно на 11% ( $p < 0,05$ ) и 13% ( $P < 0,05$ ); с НизУ – на 15% ( $p < 0,01$ ) и 20,4% ( $p < 0,01$ ); с HeУ – на 21% ( $p < 0,001$ ) и 28,6% ( $p < 0,001$ ). При этом ак-

тивность процессов ПОЛ по уровню накопления ТБК-рп во всех группах животных не различалась.

После моделирования аноксии при анализе биохимических показателей гомогенатов почек было установлено изменение накопления ТБК-активных продуктов в различной степени во всех экспериментальных группах. В группе ВУ животных в первые сутки после перенесенной аноксии отмечалась тенденция к снижению показателя (93% от контроля), которая сменилась тенденцией к повышению на 3 сутки (133%) и статистически значимым повышением на 5-е сутки (163%,  $p < 0,05$ ). Далее вплоть до 21-х суток содержание ТБК-рп уменьшалось до 112%, сохраняя статистически значимое отличие от контроля. Наибольшее значение показателя отмечено к концу периода наблюдения (173%,  $p < 0,001$ ). У крыс СУ уровень ТБК-рп во все сроки, кроме 7-х и 14-х суток, был статистически значимо выше контроля, демонстрируя максимумы на 3-и (168%,  $p < 0,05$ ) и 35-е сутки (190%,  $p < 0,01$ ), минимум на 14 (108%). У животных HeУ и НизУ к гипоксии направленность изменений совпадала и была статистически значимой у HeУ во все сроки, кроме 3-х, а у НизУ – кроме 14-х суток ( $p < 0,05$ ). Таким образом, активность процессов липопероксидации была наиболее выражена у HeУ, имела в динамике нелинейный характер с максимумом на 21 сутки. Восстановления уровня ТБК-рп к концу периода наблюдения не произошло ни в одной из групп, он оставался в 1,7–2,0 раза выше контроля, независимо от степени устойчивости к гипоксии. Полученные нами данные согласуются с литературными [8].

Динамика уровня восстановленного глутатиона в гомогенатах ткани почек у животных разных групп имела существенные различия. В первые сутки эксперимента его содержание у неустойчивых к гипоксии животных резко (в 3 раза) падало ( $p < 0,001$ ), у низкоустойчивых имело тенденцию к снижению, что представляется вполне закономерным, учитывая исходно низкий резерв глутатиона в клетках почек этих животных в контроле. В группе среднеустойчивых и высокоустойчивых наблюдалась тенденция к повышению этого показателя. Совершенно иная картина отмечалась на 5-е сутки: во всех группах животных содержание этого субстрата антиоксидантной защиты было выше нормы, но максимальные значения показателя были в группе НизУ крыс (176%,  $p < 0,001$ ), а минимальные – у ВУ (110%). На протяжении следующих дней наблюдения вплоть до 21 суток снижение уровня восстановленного глутатиона

отмечалось в той или иной степени во всех группах, что повторяло ситуацию на первые сутки. К 35 суткам ни в одной из экспериментальных групп показатель так и не пришел к контрольным цифрам, превышая их на 20–30%. Таким образом, на 5-е сутки острого постреанимационного периода в группах НеУ и НизУ была зарегистрирована кратковременная мобилизация механизмов антиоксидантной защиты, что может быть обусловлено фазным характером гемодинамики после реперфузии [9].

Активность каталазы в гомогенатах почек у крыс с высокой устойчивостью к гипоксии после реперфузии резко значительно повышалась (122%,  $p < 0,001$ ), к концу 3-х суток достигала 146% от контроля ( $p < 0,001$ ) и держалась приблизительно на этих цифрах до конца второй недели наблюдения, затем начинала снижаться и в конце эксперимента была на уровне исходных значений. В группе СУ в течение всего срока наблюдения показатель был значительно выше контроля. Животные низкоустойчивые и неустойчивые к гипоксии реагировали на перенесенную аноксию значимым снижением активности каталазы в первые 5 суток. Минимум наблюдался у НизУ на 1-е сутки (85%,  $p < 0,05$ ), у НеУ на 3-и (58%,  $p < 0,001$ ).

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 свободно-радикального гомеостаза [2], тяжелое гипоксическое воздействие на животных

с исходно низким уровнем каталазы вызывает критическое снижение ее активности. На 5-е сутки на фоне снижения каталазы адапционно-приспособительная реакция осуществляется за счет напряжения неферментативного глутатионового звена.

Некоторое усиление каталазной активности регистрировалось на 7-е сутки (НизУ до 133%, НеУ до 120%), это были максимальные значения за весь период наблюдения. Восстановление активности каталазы в тканях почек у этих групп животных до контроля происходило только к 35-м суткам.

Обработка полученных данных с помощью дисперсионного анализа выявила статистически значимое влияние ( $p < 0,01$ ) устойчивости к гипоксии на уровень ТБК-активных продуктов на 1, 5 и 21 сутки (рис. 1). На 1-е и 21-е сутки устойчивость к гипоксии уменьшала содержание ТБК-рп, т.е. у устойчивых к гипоксии животных их уровень был ниже, чем у неустойчивых. Это свидетельствует о более эффективной работе антиоксидантных систем у высокоустойчивых животных. Полученные результаты позволяют предположить, что на 5-е сутки наблюдался срыв адапционных процессов у ВУ животных, поскольку уровень ТБК-рп был выше, чем у НеУ и НизУ животных.

На рис. 2 хорошо видно, что уровень глутатиона повышается по мере возрастания показателя устойчивости к гипоксии ( $p < 0,001$ ), и самый низкий его уровень соответствует группе НеУ. И вновь на 5-е сутки, очевидно, происходит срыв адапционно-компенсаторных механизмов у животных, высокоустойчивых к гипоксии.

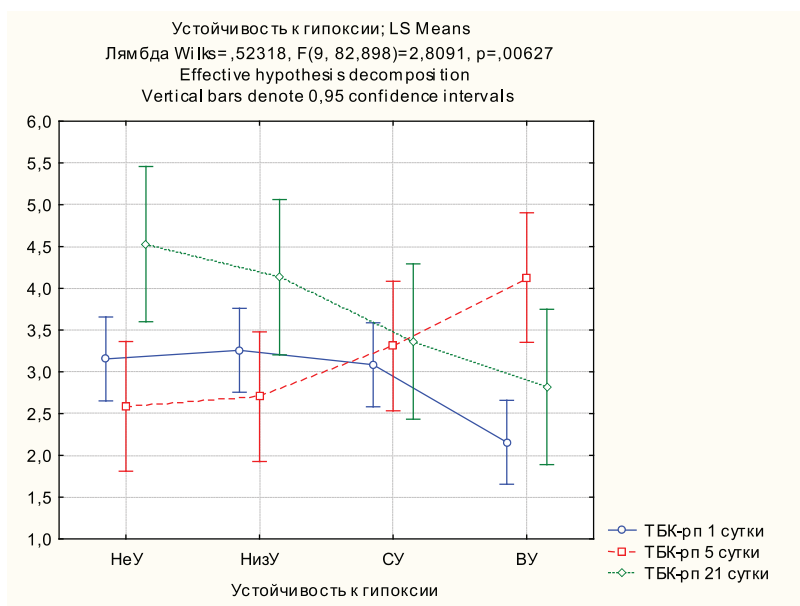


Рис. 1. Влияние устойчивости к гипоксии на уровень ТБК-рп в гомогенате почек

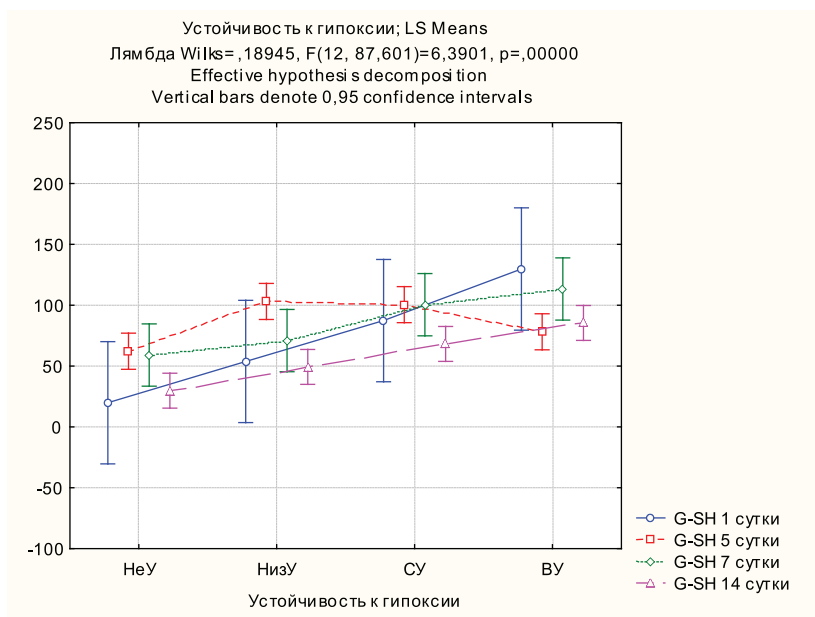


Рис. 2. Влияние устойчивости к гипоксии на содержание восстановленного глутатиона в гомогенате почек

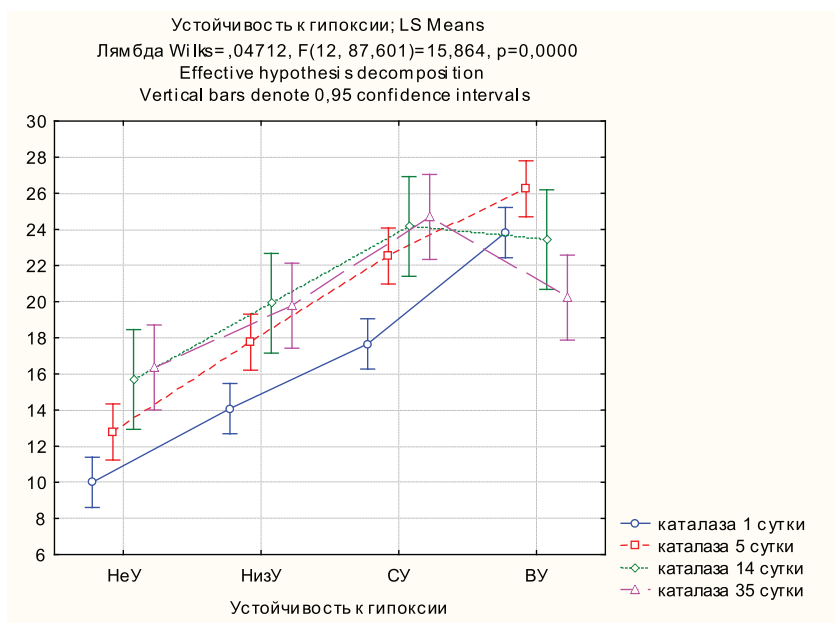


Рис. 3. Влияние устойчивости к гипоксии на активность каталазы в гомогенате почек

Влияние устойчивости к гипоксии на уровень каталазы демонстрирует рис. 3. Различия между средними значениями показателя достоверны во все сроки наблюдения: чем больше резистентность животных к гипоксии, тем выше у них уровень каталазы. И только к концу эксперимента значения показателя в группе ВУ становятся ниже, чем в других группах.

### Заключение

Результаты исследований свидетельствуют, что развитие и исход ишемического повреждения почек, вызванного остановкой системного кровообращения, обусловлены индивидуальными физиолого-биохимическими характеристиками животных, которые, очевидно, во многом генетически детерминированы. У крыс высокоустойчивых

и среднеустойчивых к гипоксии отмечались исходно высокие показатели антиоксидантной защиты при относительно низкой активности ПОЛ. У животных неустойчивых к гипоксии на фоне недостаточности антиоксидантной защиты наблюдалась высокая активность процессов липопероксидации. Динамика всех показателей носила нелинейный характер с положениями экстремальных точек на 5–7-е и 21-е сутки.

### Список литературы

1. Байбурина Г.А., Нургалева Е.А., Шибкова Д.З., Башкатов С.А. Способ определения степени устойчивости к гипобарической гипоксии мелких лабораторных животных // Заявка № 20141377/14 с приоритетом от 17.09.2014
2. Жировое перерождение печени и ишемическая болезнь сердца. Гериатрические аспекты / под ред. Л.П. Хошининой. – М., 2014. – 346 с.
3. Жукова А.Г., Сазонтова Т.Г., Заржецкий Ю.В., Волков А.В., Мороз В.В. Тканеспецифичность ответа системы про-и антиоксидантов после реанимации // Общ. реаниматол. – 2005. – Т. 1, № 3. – С. 46–53.
4. Жукова А.Г., Сазонтова Т.Г., Ю.В. Архипенко, Волков А.В. Половые различия в про- и антиоксидантной системах головного мозга в отдаленном постреанимационном периоде // Общ. реаниматол. – 2010. – Т. VI, № 4. – С. 54–57.
5. Зарубина И.В. Молекулярные механизмы индивидуальной устойчивости к гипоксии // Обзоры клин. фармакол. лек. терапии. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 49–51.
6. Меерсон Ф.З. Адаптация к стрессу и гипоксия // Бюлл. эксперим. биол. мед. – 1994. – № 1. – С. 574–575.
7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.И. Определение интенсивности процессов ПОЛ по уровню малонового альдегида // Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховичи. – М.: Медицина, 1997. – С. 66–68.
8. Ahmadiasl N., Banaei S., Alihemmati A. Combination Antioxidant Effect of Erythropoietin and Melatonin on Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats // Iran J. Basic Med. Sci. – 2013. – Vol. 16, № 12. – P. 1209–1216.
9. Hueper K., Gutberlet M., Rong S., Hartung D., Mengel M., Lu X., Haller H., Wacker F., Meier M., Gueler F. Acute kidney injury: arterial spin labeling to monitor renal perfusion impairment in mice-comparison with histopathologic results and renal function // Radiology. – 2014. – Vol. 270, № 1. – P. 117–24.
10. Lash L.H., Cummings B.S. Mechanisms of toxicant-induced acute kidney injury // Comprehensive Toxicology–Renal Toxicology / ed. R.G. Schnellmann. – Oxford: Elsevier, 2010. – P. 81–116.
11. Rodriguez F., Bonacasa B., Fenoy F.J., Salom M.G. Reactive oxygen and nitrogen species in the renal ischemia/reperfusion injury // Curr. Pharm. Des. – 2013. – Vol. 19, № 15. – P. 2776–94.
12. Sabbahy E.M., Vaidya V.S. Ischemic kidney injury and mechanisms of tissue repair // Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med. – 2011. – Vol. 3, № 5. – P. 606–618.

### References

1. Bajburina G.A., Nurgaleeva E.A., Shibkova D.Z., Bashkatov S.A. *Sposob opredelenija stepeni ustojchivosti k gipobaricheskoj gipoksii melkih laboratornyh zhivotnyh* – Zayavka no. 20141377/14 s prioriteto ot 17.09.2014.
2. *Zhirovoe pererozhdenie pečeni i ishemicheskaja bolezn' serdca. Geriatričeskie aspekty* [pod red. L.P. Horoshininoj]. M., 2014. 346 p.
3. Zhukova A.G., Sazontova T.G., Zaržeckij Ju.V., Volkov A.V., Moroz V.V. *Tkanespecifichnost' otveta sistemy pro-i antioksidantov posle reanimacii*, *Obshh. reanimatol.*, 2005, T. 1, no 3, pp. 46–53.
4. Zhukova A.G., Sazontova T.G., Ju.V. Arhipenko, Volkov A.V. *Polovye razlichija v pro- i antioksidantnoj sistemah golovnoogo mozga v otдалenno postreanimacionno periode*, *Obshh. Reanimatol.*, 2010, T. VI, no 4. pp. 54–57.
5. Zarubina I.V. *Molekuljarnye mehanizmy individual'noj ustojchivosti k gipoksii*, *Obzory klin. farmakol. lek. Terapii*, 2005, T. 4, no 1. pp. 49–51.
6. Meerson F.Z. *Adaptacija k stressu i gipoksija*, *Bjull. jeksp. biol. med.*, 1994, no 1, pp. 574–575.
7. Stal'naja I.D., Garishvili T.I. *Opredelenie intensivnosti processov POL po urovnju malonovogo al'degida*. *Sovremennye metody v biokhimi* [pod red. V.N. Orehovichi]. Moscow, Medicina, 1997, pp 66–68.
8. Ahmadiasl N., Banaei S., Alihemmati A. Combination Antioxidant Effect of Erythropoietin and Melatonin on Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats // Iran J. Basic Med. Sci. 2013. Vol. 16, no. 12. pp. 1209–1216.
9. Hueper K., Gutberlet M., Rong S., Hartung D., Mengel M., Lu X., Haller H., Wacker F., Meier M., Gueler F. Acute kidney injury: arterial spin labeling to monitor renal perfusion impairment in mice-comparison with histopathologic results and renal function // Radiology. 2014. Vol. 270, no. 1. pp. 117–24.
10. Lash L.H., Cummings B.S. Mechanisms of toxicant-induced acute kidney injury // Comprehensive Toxicology–Renal Toxicology. R.G. Schnellmann. Oxford: Elsevier, 2010. pp. 81–116.
11. Rodriguez F., Bonacasa B., Fenoy F.J., Salom M.G. Reactive oxygen and nitrogen species in the renal ischemia/reperfusion injury // Curr. Pharm. Des. 2013. Vol. 19, no. 15. pp. 2776–94.
12. Sabbahy E.M., Vaidya V.S. Ischemic kidney injury and mechanisms of tissue repair // Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med. 2011. Vol. 3, no. 5. pp. 606–618.

### Рецензенты:

Каюмова А.Ф., д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии, ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа;  
Хисматуллина З.Р., д.б.н., зав. кафедрой физиологии человека и зоологии биологического факультета, ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет» Министерства образования и науки РФ, г. Уфа.  
Работа поступила в редакцию 10.03.2015.