

ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕЙСТВИЯ НОВОГО АНТИГИПОКСАНТНОГО И АНТИОКСИДАНТНОГО СРЕДСТВА ПРИ ГИПОКСИИ, ВЫЗАННОЙ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕЙ

Ж.Д. Хужахмедов, Л.И. Шевченко, Х.Я. Каримов, Т.Р. Алимов, Р.К. Рахманбердиева

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии,
Ташкент, Узбекистан

RESEARCH OF THE EFFECT OF A NEW ANTIHYPHOXANT AND ANTIOXIDANT AGENT IN EXPERIMENTAL HYPOXIA CAUSED BY ACUTE BLOOD LOSS

Zh.J. Khuzhakhmedov, L.I. Shevchenko, H.Y. Karimov, T.R. Alimov,
R.K. Rakhmanberdieva

Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Hematology, Tashkent, Uzbekistan

Цель. Изучение в эксперименте антигипоксического и антиоксидантного действия нового кровезаменителя реоамбрасола при острой кровопотере.

Материал и методы. Эксперименты были проведены на 60 крысах, у которых воспроизводили острую кровопотерю. Эффективность нового кровезаменителя определяли по сравнению с препаратом «Реополиглюкин». Были исследованы: содержание гипоксия-индуцибельного фактора (HIF-1 α), интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), активность ферментов антиоксидантной защиты в крови, миокарде и печени.

Результаты. Кровопотеря сопровождается гипоксией, о чем свидетельствует значение гипоксия-индуцибельного фактора HIF-1 α , который повысился во второй группе в 4,1 раза ($p<0,0001$), а также активацией процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови, миокарде, и печени снижением активности ферментов антиоксидантной системы (АОС). После применения реоамбрасола содержание гипоксия-индуцибельного фактора HIF-1 α в плазме крови снижалось в 2,9 раза ($p<0,0001$), по сравнению со значением после кровопотери, что было на 44,4% ниже ($p<0,0001$), чем после введения реополиглюкина. После применения реоамбрасола восстанавливалось равновесие ПОЛ/АОС в крови, миокарде и печени.

Выводы. Новый препарат «Реоамбрасол» обладает выраженным антигипоксантным действием при острой кровопотере, что проявляется в способности уменьшать содержание гипоксия-индуцибельного фактора (HIF-1 α) в крови подопытных животных. Введение реоамбрасола при острой кровопотере эффективно угнетает в крови, миокарде и печени процессы липопероксидации и повышает активность ферментов АОС, что свидетельствует о его антиоксидантном действии.

Ключевые слова: кровезаменитель, реоамбрасол, острая кровопотеря, перекисное окисление липидов (ПОЛ), антиоксидантная система (АОС), гипоксия-индуцибельный фактор (HIF-1 α).

Aim. To study the antihypoxic and antioxidant effect of the new blood substitute «Rheoambrasol» in acute blood loss.

Material and methods. The experiments were carried out on 60 rats, in which the experimental model of acute blood loss was reproduced. The effectiveness of using the new blood substitute «Rheoambrasol» in acute blood loss was determined in comparison with the drug "Rheopolyglukin".

Results. The results obtained, it can be seen that blood loss is accompanied by hypoxia, as evidenced by the concentration of hypoxia-inducible factor (HIF-1 α), which increased in the second group by 4.1 times. After the infusion of "Rheoambrasol", the content of hypoxia-inducible factor HIF-1 α in blood plasma decreased 2.9 times, compared with the value after blood loss, which was 44.4% lower than after the infusion of the drug "Rheopolyglucin". After the use of the drug "Rheoambrasol", the balance of lipid peroxidation activity/antioxidant system activity (LPO/AOS) in the blood, myocardium and liver was restored.

Conclusion. The new drug "Rheoambrasol" has a pronounced antihypoxant effect in acute blood loss, which is manifested in the ability to reduce the content of HIF-1 α in the blood of experimental animals.

The introduction of "Rheoambrasol" in acute blood loss effectively inhibits lipid peroxidation processes in the blood, myocardium and liver and increases the activity of AOS enzymes, which indicates its antioxidant effect.

Key words: blood substitute, "Rheoambrasol", acute blood loss, lipid peroxidation (LPO), antioxidant system (AOS), hypoxia inducible factor (HIF-1 α).

https://doi.org/10.54185/TBEM/vol14_iss3/a16

В настоящее время большое внимание во всем мире уделяется разработке новых средств, которые при тяжелых гипоксических состояниях сложного генеза способны на клеточном уровне восстанавливать метаболизм и жизнеспособность клеток. Успехи молекулярной биологии и экспериментальной фармакологии последних лет позволили вскрыть тонкие механизмы формирования состояния гипоксии различного генеза и индуцируемых ею нарушений метаболических и функциональных процессов на уровне клетки и субклеточных структур. Гипоксия характеризуется увеличением количества свободных радикалов, активацией ПОЛ, комплексным подавлением антиоксидантной защиты, нарушением прооксидантно-антиоксидантного равновесия. Определен ряд морфофункциональных объектов (регуляторные белки, митохондриальные ионные каналы, внутриклеточные ферменты, специфические рецепторы и т.д.), принимающих непосредственное участие в развитии срочной и долговременной адаптации клетки и всего организма к гипоксии. Доказано, что самым мощным кислород-чувствительным протеиновым комплексом является гипоксия-индукционный фактор (hypoxia-inducible factor – HIF) и именно он представляет собой патогенетически значимый фактор в развитии многих патологических состояний, что определяет перспективность изучения путей модуляции его активности в клетках [14,16,21]. Одним из путей терапии гипоксических состояний является разработка и внедрение в медицинскую практику средств, способных корrigировать нарушения энергетического обмена и их последствия и повышать тем самым устойчивость клеток, органов и организма в целом к недостатку кислорода и другим воздействиям, нарушающим энергопродукцию [10,20]. К таким средствам относится разработанный в Республиканском научно-практическом центре гематологии (РСНПМЦГ) МЗ РУз совместно с Институтом химии растительных веществ им. акад.

С.Ю. Юнусова (ИХРВ) АН РУз кровезаменитель «Реоамbrasол» [9].

Целью исследования является изучение антигипоксического и антиоксидантного действия нового кровезаменителя реоамbrasола при острой кровопотере.

Материал и методы

Эксперименты были поставлены на крысах самцах массой 0,18-0,20 кг, у которых воспроизводили острую кровопотерю, со снижением артериального давления (АД) до 40 мм рт. ст.

Кровопотерю осуществляли под этиалиловым наркозом (4 г/100 г массы тела), моделировали у предварительно гепаринизированных животных, гепарин вводили внутривенно из расчета 100МЕ/100 г массы тела животного, предварительно разведенного в физиологическом растворе хлорида натрия. Под местной анестезией 0,5% раствором новокаина, выделяли и канюлировали сонную артерию, кровь эвакуировали в резервуар, добиваясь снижения АД в течение 1 часа до 40 мм рт. ст. [13]. Объем кровопотери составил 2,6 мл/100 г массы тела. При достижении АД равного 40 мм рт. ст. проводили инфузию исследуемых кровезаменителей, введением в хвостовую вену крысам: реополиглюкина (группа сравнения), реоамbrasола (группа опыта) из расчета 40 мл/кг массы тела из расчета, что в 1/5 превышает объем выпущенной крови.

Животные были разделены на следующие группы:

I группа – до кровопотери (интактные) (n=20);

II группа (контрольная) – с острой кровопотерей (исследуемые параметры были изучены у 16 крыс);

III группа (сравнения) – с применением инфузии реополиглюкина после кровопотери (исследуемые параметры были изучены у 9 крыс);

IV группа (основная, опытная) – с применением инфузии реоамbrasола после кровопотери (n=10);

Таким образом, исследуемые показатели были изучены у 55 крыс.

Также на 30 крысах было проведено изучение показателей смертности и выживаемости.

Исследования проводили в фазе острой кровопотери и через час после инфузии кровезаменителей реополиглюкина в III группе и нового кровезаменителя реоамбрасола в IV группе.

В I группу вошли интактные животные до кровопотери, исследуемые показатели которых, служили исходными данными.

В плазме крови подопытных животных определяли содержание гипоксия-индуцибельного фактора HIF-1 α . Концентрацию HIF-1 α определяли иммуноферментным методом (ИФА (ELISA)) с использованием набора для иммуноферментного исследования «Cloud-Clone corp.» (США) согласно инструкции приложенной к набору. Измерения производили при длине волны 450 нм на микропланшетном фотометре MR96 (Mindray, Китай). Полученные результаты выражали в нг/мл.

У обследуемых животных определяли состояние антиоксидантной защиты и липидных компонентов в крови, ткани миокарда и печени.

В крови интенсивность ПОЛ и состояние АОС определяли в соответствии с методиками, описанными ниже.

Уровень МДА определяли по методу Л.И. Андреевой и соавт. (1988) [1, 4]. Расчет продуктов производили, используя коэффициент молярной экстинции, и выражали в нмоль/мг. Диеновые коньюгаты и диеновые кетоны определяли в гексановых экстрактах сыворотки крови (1996) [18].

Активность каталазы (КТ) определяли по методу М.А. Королюка и соавт. (1998) [11, 12], принцип которого основан на способности H₂O₂ образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс. Измерения проводились при длине волны 410 нм. За ферментативную единицу (Е) принимали количество фермента, необходимого для превращения 1 мкмоля субстрата в 1 мин при 25 °C [2].

Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по методу В.Г. Мхитряна и соавт. (1978) [15]. Активность рассчитывали по проценту торможения (T%) восстановления тетразолиевого синего в щелочной среде. За единицу активности СОД (Е) принимали количество фермента, необходимого для 50%-го ингибиования восстановления нитросинего тетразолия в неэнзиматической системе феназинметасульфата и НАДН. Активность фермента выражали в усл. ед/мин х мг белка.

Активность глутатионпероксидазы (ГПО) определяли по накоплению окисленного глутатиона (GSSG) в результате разложения липоперекисей. Активность фермента выражали в усл. ед/мин х мг Hb в мин [10].

Активность глутатионредуктазы (ГР) эритроцитов определяли в реакционной среде фосфатного буфера при длине волны 340 нм и по убыли НАДФН*Н и выражали в мкМ НАДФН2/мин х г Hb [19].

Также определяли состояние ПОЛ и АОС в ткани миокарда и печени. Для оценки интенсивности процессов ПОЛ и АОС во время острой кровопотери и после инфузии кровезаменителей, печень и миокард забирали металлическими щипцами, охлажденными в морозильной камере и затем гомогенизировали их [7,8]. Забор животных производили при ГШ и через 1 час после инфузии кровезаменителей.

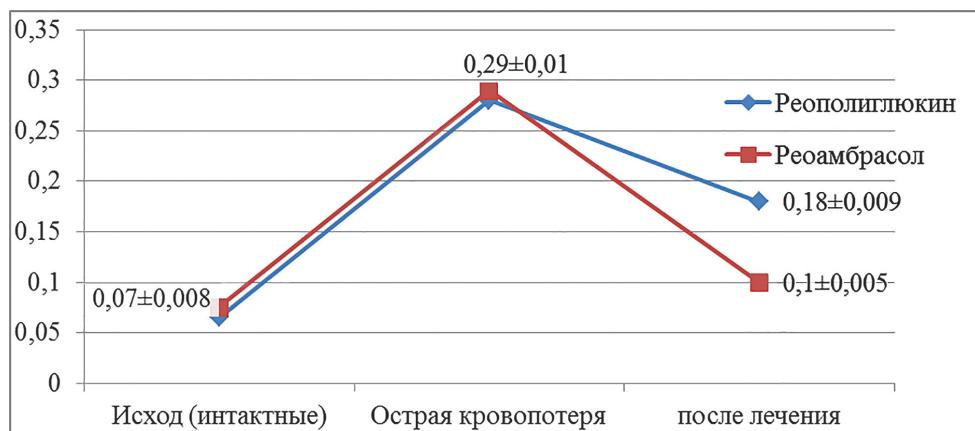
В гомогенате определяли содержание МДА, диеновых кетонов (Дкет), диеновых коньюгатов (Дкон), глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГПО), активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы [5,6]. Уровень показателей перекисного окисления липидов (МДА, диеновых кетонов, диеновых коньюгатов) определяли по методу Титяевой (1996). Активность ГПО и ГР определяли спектрофотометрически при 340 нм. Активность ферментов АОС выражали в единицах (Ед.) на грамм сырой массы миокарда и в виде удельной активности [7, 8]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) выражали в ммоль/мин/мг белка [3]. В качестве стандарта использовали очищенный препарат СОД («ICN Biomedicals», США) [22]. Каталазную активность исследуемых образцов определяли спектрофотометрически и выражали в ммоль/мин/г белка [5,8,12]. Измерения проводили на спектрофотометре UNICO2800 (United products and instruments, Inc., США).

Все цифровые результаты были подвергнуты статистической обработке непрямых разностей с вычислением критерия Стьюдента.

Результаты

Исследование изменения содержания гипоксия-индуцибельного фактора HIF-1 α в крови при острой кровопотере показало, что его концентрация во II группе, относительно значений I группы, возросла в 4,1 раза в течение часа ($p<0,001$) (рис. 1).

Все животные после острой кровопотери без лечения погибли в течение $55,0\pm0,5$ мин.

**Рис. 1.** Влияние кровезаменителей на маркер гипоксии HIF-1 α при острой кровопотере у крыс

После применения реоамбрасола содержание гипоксия-индукционного фактора HIF-1 α в плазме крови снижалось в 2,9 раза ($p<0,0001$), по сравнению со значением после кровопотери, что было на 44,4% ниже ($p<0,0001$), чем после введения реополиглюкина (рис. 1).

После применения реоамбрасола выжило 9 из 10 животных ($p<0,05$) (90%), а после применения реополиглюкина 7 из 10 животных ($p<0,05$) (70%).

При гипоксии, вызванной острой кровопотерей, происходит активация ПОЛ и угнетение системы антиоксидантной защиты в крови, миокарде и печени (табл. 1-3).

Установлено, что после моделирования острой кровопотери содержание МДА в крови достоверно повышается сразу после кровопотери в 1,6 раза ($p<0,0001$). Сразу после кровопотери выявляется увеличение диеновых кетонов в 1,6 раза ($p<0,0001$), диеновых коньюгатов в 1,7 раза ($p<0,0001$) (табл. 1).

Таблица 1. Изменение показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в крови при острой кровопотере и после инфузии кровезаменителей ($M\pm m$)

Показатели	Интактные, n=20	Острая кровопотеря, n=16	После кровопотери + инфузия кровезаменителя	
			«Реополиглюкин», n=9	«Реоамбрасол», n=10
I группа	II группа	III группа	IV группа	
МДАпл, нмоль/мл пл	2,2±0,09	3,5±0,10* $p<0,0001$	2,8±0,10^ $p<0,01$	2,3±0,08^ $p<0,0002$
Д кет, отн. Ед	0,17±0,02	0,27±0,03* $p<0,0001$	0,23±0,02 $p>0,05$	0,17±0,015 $p<0,05$
Дкон, отн. ед.	1,2±0,06	2,1±0,07* $p<0,0001$	1,7±0,09^ $p<0,002$	1,2±0,11^ $p<0,01$
КТ эр, нг/мг Hb x мин	39,9±2,2	30,0±1,8 $p<0,0001$	33,5±1,9 $p>0,05$	41,6±1,4 $p<0,01$
ГРЭр, мкМ НАДФН2/мин •г Hb	2,3±0,1	1,9±0,1 $p<0,02$	2,1±0,1 $p>0,05$	2,6±0,10 $p<0,01$
ГПОэр, усл.ед/минх мг Hb	0,3±0,03	0,21±0,02 $p<0,01$	0,26±0,02 $p>0,05$	0,32±0,01 $p<0,01$
СОДпл, усл. ед/мг белка	5,1 ± 0,3	3,0±0,2 $p<0,0001$	3,6±0,3 $p>0,05$	4,9±0,2 $p<0,0001$
K(ПОЛ/AОС) усл. ед.	0,08±0,008	0,18±0,016* $p<0,0001$	0,115±0,013^ $p<0,02$	0,060±0,006^# $p<0,0002$

Примечание. * – достоверность ($p<0,05$) при сравнении с исходным состоянием; ^ – то же ($p<0,05$) при сравнении с показателями после кровопотери во II группе; # – то же ($p<0,05$) при сравнении результатов с группой после инфузии кровезаменителей.

После применения реоамбрасола показатели ПОЛ в крови снижались до исходного уровня, чего не наблюдалось после применения реополиглюкина. В крови достоверно уменьшалось содержание МДА – на 17,9% ($p<0,0001$), диеновых кетонов и диеновых конъюгатов – на 26,1% ($p<0,02$) и 29,4% ($p<0,01$), по сравнению с инфузией реополиглюкина.

Активность каталазы в крови понизилась в 1,3 раза ($p<0,0001$), глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы – в 1,2 ($p<0,02$) и в 1,4 раза ($p<0,01$), а супероксиддисмутазы – в 1,7 раза ($p<0,0001$). Исследование состояния ПОЛ и АОС в крови также показало статистически значимое двукратное увеличение коэффициента К(ПОЛ/АОС) ($p<0,0001$), что указывает на преобладание интенсивности процессов липопероксидации над активностью ферментов антиоксидантной защиты (табл. 1).

Так, в крови активность каталазы была выше на 24,2% ($p<0,01$), ГР – на 23,8% ($p<0,01$), ГПО – на 23,1% ($p>0,05$), СОД – на 36,1% ($p<0,0001$), по сравнению с эффектом от инфузии реополиглюкина (табл.1).

После инфузии реополиглюкина было отмечено понижение коэффициента КПОЛ/АОС в крови в 1,4 раза ($p<0,02$), а после инфузии реоамбрасола – в 2,7 раза ($p<0,0001$), что по срав-

нению с реополиглюкином было ниже на 47,8% ($p<0,05$).

При изучении интенсивности процессов ПОЛ и состояния АОС в миокарде во II группе при острой кровопотере были получены следующие результаты: МДА повысилось в 2,1 раза ($p<0,0001$), диеновых кетонов и диеновых конъюгатов в 1,8 ($p<0,0002$) и 1,7 раза ($p<0,01$) соответственно (табл. 2).

При острой кровопотере во II группе, при усиливании интенсивности перекисного окисления липидов и избыточного накопления его продуктов исследование состояния АОС в миокарде показало, что активность каталазы, супероксиддисмутазы, и содержание глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы снижались.

Наибольшая информативная ценность о состоянии ПОЛ/АОС также выявлена во II группе при анализе коэффициента КПОЛ/АОС, который достоверно увеличивается в миокарде в 4,9 раза ($p<0,0001$), что указывает на преобладание процессов ПОЛ над значениями активности показателей АОС.

В миокарде, после применения реоамбрасола в IV группе содержание МДА было ниже на 36,0% ($p<0,0001$), диеновых кетонов – на 40,0% ($p<0,0001$), диеновых конъюгатов – на 30,0%

Таблица 2. Изменение показателей перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы миокарда при острой кровопотере и после инфузии кровезаменителей ($M\pm m$)

Показатели	Интактные, n=20	ОК n=16	Инфузия препарата:	
			«Реополиглюкин», n=9	«Реоамбрасол», n=10
	I группа	II группа	III группа	IV группа
МДА, мкмоль/100г	3,2±0,05	6,5±0,2* $p<0,0001$	5,0±0,3* [▲] $p<0,0001$	3,2±0,2 ^{*#} $p<0,0001$
Дкет, нмоль/мг	1,6±0,05	2,7±0,08* $p<0,0001$	2,5±0,16* [▲] $p>0,05$	1,5 ± 0,09 ^{*#} $p<0,0001$
Дкон, нмоль/мг	0,7±0,03	1,2±0,03* $p<0,0001$	1,0±0,06 [▲] $p<0,01$	0,7±0,05 [▲] $p<0,0002$
КТ, 104 ед./ч•кг	539,6±15,4	214,3±8,8* $p<0,0001$	310,1±17,3* [▲] $p<0,0001$	539,1±24,6 ^{*#} $p<0,0001$
ГР, нмоль/мг	5,3±0,2	4,0±0,2* $p<0,0001$	4,2±0,2* [▲] $p>0,05$	5,5±0,2 ^{*#} $p<0,0001$
ГПО, ммоль/кг	7,3±0,2	4,5±0,2* $p<0,0001$	4,8±0,3* [▲] $p>0,05$	7,4±0,3 ^{*#} $p<0,0001$
СОД, 103 ед./ч•кг	205,1 ± 5,9	101,2±4,1* $p<0,0001$	112,6 ± 6,0* [▲] $p>0,05$	214,4±9,9 ^{*#} $p<0,0001$
КПОЛ/АОС, усл. ед.	0,007±0,0004	0,034±0,0023* $p<0,0001$	0,020±0,0018* [▲] $p<0,0001$	0,007±0,0007 ^{*#} $p<0,0001$

Примечание: то же, что и в табл. 1.

($p<0,0002$), по сравнению с реополиглюкином (III группа).

В миокарде после применения реоамбрасола активность каталазы была выше на 73,8% ($p<0,0001$), ГР – на 30,9% ($p<0,0001$), ГПО – на 54,1% ($p<0,0001$) и СОД – на 90,4% ($p<0,0001$) относительно эффекта после введения реополиглюкина (табл. 2).

Активность ферментов АОС снижалась в миокарде следующим образом: активность каталазы – в 2,5 раза ($p<0,0001$), ГР – в 1,3 раза ($p<0,0002$), ГПО – в 1,6 раза ($p<0,0001$), СОД понизилась в 2,0 раза ($p<0,0001$).

После инфузии реополиглюкина в миокарде было отмечено понижение коэффициента КПОЛ/АОС в 1,7 раза, а после инфузии реоамбрасола – в 4,9 раза ($p<0,0001$), что по сравнению с реополиглюкином было ниже на 65% ($p<0,05$).

В печени во II группе содержание МДА достоверно повысилось в 2,0 ($p<0,0001$) раза диеновых кетонов в 1,6 раза ($p<0,0001$), диеновых конъюгатов в 1,9 раза ($p<0,0001$), а активность ферментов АОС в печени снижалась: каталазы – в 1,5 раза ($p<0,0001$), ГР – в 1,3 раза ($p<0,02$), ГПО – в 1,1 раза ($p>0,05$), и СОД – в 1,2 раза ($p<0,01$) (табл. 3).

Состояние ПОЛ/АОС во II группе в печени увеличивается в 3,0 раза ($p<0,0001$), что показывает превалирование процессов ПОЛ по отношению к АОС.

В печени в IV группе содержание МДА было ниже на 41,7% ($p<0,0001$), диеновых кетонов – на 35,7% ($p<0,0002$), диеновых конъюгатов – на 50,0% ($p<0,0001$), по сравнению с показателями в III группе.

При изучении активности ферментов антиоксидантной системы в печени после инфузии кровезаменителей, показатели были выше после применения реоамбрасола.

В печени, через 1 час после введения реоамбрасола в IV группе активность ферментов повышалась: каталазы – на 80,7% ($p<0,0001$), ГР была выше на 19,7% ($p<0,05$) и ГПО – на 14,1% ($p<0,05$), СОД – на 11,0% ($p<0,05$), по сравнению с результатами после инфузии реополиглюкина (III группа) (табл.3).

В целом, после инфузии реополиглюкина в печени, было отмечено статистически незначительное понижение коэффициента КПОЛ/АОС, а после инфузии реоамбрасола – в 3 раза ($p<0,0001$), что по сравнению с реополиглюкином было ниже на 60% ($p<0,05$).

Таблица 3. Изменение показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы печени при острой кровопотере ($M\pm m$) и после инфузии кровезаменителей

Показатели	Группы			
	I группа	II группа	III группа	IV группа
	Интактные, n=20	OK n=16	Инфузия препарата	
			«Реополиглюкин», n=9	«Реоамбрасол», n=10
МДА, мкмоль/100г	3,5±0,2	7,1 ±0,4* p<0,0001	6,0±0,3*^ p>0,05	3,5±0,3^# p<0,0001
Дкет, нмоль/мг	1,0±0,06	1,6±0,10* p<0,0001	1,4±0,11^ p>0,05	0,9 ± 0,07^# p<0,0002
Дкон, нмоль/мг	0,9±0,05	1,7±0,10* p<0,0001	1,6±0,12*^ p>0,05	0,8±0,06^# p<0,0001
КТ, 104 ед./ч•кг	1097,5±45,4	751,3±36,5* p<0,0001	769,1±42,9*^ p>0,05	1089,4±41,4^# p<0,0001
ГР, нмоль/мг	28,4±2,1	22,6±1,0* p<0,02	23,8±0,8*^ p>0,05	28,5±1,1^# p<0,05
ГПО, ммоль/кг	6,8±0,3	6,0±0,3* p>0,05	6,1±0,2* p>0,05	6,8±0,2^# p<0,05
СОД, 103 ед./ч•кг	175,4±7,0	146,4±7,1* p<0,01	158,3 ± 6,2^ p>0,05	175,8±6,7^# p<0,05
КПОЛ/АОС, усл. ед.	0,004±0,0004	0,012±0,0011* p<0,0001	0,010±0,0011*^ p>0,05	0,004±0,0004 ^# p<0,05

Примечание: то же, что и в таблице №1.

Обсуждение

Исходя из полученных результатов видно, что острая кровопотеря со снижением АД до 40 мм рт. ст. в течение 1 часа сопровождается гипоксией, значение гипоксия-индуцильного фактора HIF-1 α повысилось в 4,1 раза ($p<0,0001$), а также происходила активация процессов ПОЛ в крови, миокарде и печени и снижалась активность ферментов АОС.

Из данных нашего исследования видно, что при острой кровопотере происходит накопление в крови, миокарде и печени МДА, диеновых кетонов и коньюгатов, а активность ферментативной системы антиоксидантной защиты снижается.

В крови, миокарде и печени происходило более выраженное ингибирование ферментативной системы антиоксидантной защиты, по сравнению с результатами исследования после применения кровезаменителей.

Так, через 1 час после инфузии реоамбрасола коэффициент КПОЛ/АОС снижался в крови в 2,7 раза ($p<0,0001$), в миокарде – в 4,9 раза ($p<0,0001$), в печени – в 3 раза ($p<0,0001$) соответственно по отношению к результатам у животных с кровопотерей и был ниже по сравнению с реополиглюкином на 47,8%, 65% и 60% ($p<0,05$) соответственно.

Применение нового кровезаменителя реоамбрасола способствовало снижению содержания гипоксия-индуцильного фактора HIF-1 α в 2,9 раза, восстанавливало показатели ПОЛ и активность АОС в крови, миокарде и печени. Кровезаменитель реоамбрасол оказался эффективным антигипоксическим и антиоксидантным средством, способным уменьшать содержание гипоксия-индуцильного фактора HIF-1 α и равновесие ПОЛ/АОС, при гипоксии вызванной острой кровопотерей.

Действие реоамбрасола основано на способности янтарной кислоты и полисахарида нормализовать энергетический дефицит в клетках, ускорять оборот дикарбоновых кислот, снижать концентрацию лактата и пирувата, что приводит в свою очередь к увеличению потребления кислорода тканями, и тем самым корректирует метаболические нарушения, вызванные гипоксией.

Выводы

1. Новый препарат «Реоамбрасол» обладает выраженным антигипоксантным действием при острой кровопотере, что проявляется в способности уменьшать содержание гипоксия-

индуцильного фактора (HIF-1 α) в крови подопытных животных.

2. Введение реоамбрасола при острой кровопотере эффективно угнетает в крови, миокарде и печени процессы липопероксидации и повышает активность ферментов АОС, что свидетельствует о его антиоксидантном действии.

Литература:

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в teste с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. 1988;11:41–43. [Andreeva L.I., Kozhemyakin L.A., Kishkun A.A. Modifikatsiya metoda opredeleniya perekisey lipidov v teste s tiobarbiturovoj kislotoj // Laboratornoe delo. 1988;11:41–43. In Russ.]
2. Бражникова Д.А., Шульгин К.К., Матасова Л.В., Власова С.Н., Шведенко Е.Н. Активность супероксиддимутазы и каталазы в печени и сыворотке крови крыс с токсическим гепатитом при введении 6-гидрокси-2, 2, 4- trimetil-1, 2 дигидрохинолина. Научные исследования в современном мире: опыт, проблемы и перспективы развития. 2019:39-43. [Brazhnikova D.A., Shul'gin K.K., Matasova L.V., Vlasova S.N., Shvedenko E.N. Aktivnost' superoksiddimutazy i katalazy v pecheni i syvorotke krovi krys s toksicheskim hepatitom pri vvedenii 6-gidroksi-2, 2, 4-trimetil-1, 2 digidrokhinolina. Nauchnye issledovaniya v sovremennom mire: opyt, problemy i perspektivy razvitiya. 2019:39-43. In Russ.]
3. Брусов О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на autoокисление адреналина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1976;81(1):33-35. [Brusov O.S., Gerasimov A.M., Panchenko L.F. Vliyanie prirodnykh ingibitorov radikal'nykh reaktsiy na avtookislenie adrenalina // Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. 1976;81(1):33-35. In Russ.]
4. Гаджиев Н.Д. Практическое значение сравнительного исследования малонового диальдегида в перitoneальном экссудате, сыворотке крови и моче у больных с распространенным перитонитом. Международный мед журн. 2012;1: 37-40. [Gadzhiev N.D. Prakticheskoye znachenije sravnitel'nogo issledovaniya malonovogo dial'degida v peritoneal'nom ekssudate, syvorotke krovi i

- moche u bol'nykh s rasprostranennym peritonitom. Mezhdunarodniy med zhurn. 2012;1: 37-40. in Russ.]
5. Долгих В.Т., Разгонов Ф.И., Шикунова Л.Г. Активация процессов липопероксидации при острой смертельной кровопотере и повреждении сердца. Общая реаниматология. 2006;2(5-6):50-54. [Dolgikh V.T., Razgonov F.I., Shikunova L.G. Aktivatsiya protsessov lipoperoksidatsii pri ostroy smertel'noy krovopotere i povrezhdenii serdtsa. Obshchaya reanimatologiya. 2006;2(5-6):50-54. In Russ.]
 6. Зыблев С.Л., Дундаров З.А. Состояние метаболизма при экспериментальной острой массивной кровопотере в зависимости от проводимой терапии. Новости хирургии. 2013;21(5):3-10. [Zyblev S.L., Dundarov Z.A. Sostoyanie metabolizma pri eksperimental'noy ostroy massivnoy krovopotere v zavisimosti ot provodimoy terapii. Novosti khirurgii. 2013;21(5):3-10. In Russ.]
 7. Искусных И.Ю., Попова Т.Н., Агарков А.А., Ржевский С.Г. Экспрессия глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы и уровень свободнорадикальных процессов при сахарном диабете у крыс. Молекулярная медицина. 2012;1:49-53. [Iskusnykh I.Yu., Popova T.N., Agarkov A.A., Rzhevskiy S.G. Ekspressiya glutationperoksidazy i glutationreduktazy i uroven' svobodnoradikal'nykh protsessov pri sakharном diabete u krys. Molekulyarnaya meditsina. 2012;1:49-53. In Russ.]
 8. Искусных И.Ю., Попова Т.Н., Мушарова О.С. Интенсивность свободнорадикальных процессов и экспрессия глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы в сердце крыс при адреналиновом миокардите. Биомедицинская химия. 2012;58(5):530-538. [Iskusnykh I.Yu., Popova T.N., Musharova O.S. Intensivnost' svobodnoradikal'nykh protsessov i ekspressiya glutationreduktazy i glutationperoksidazy v serdtse krys pri adrenalino-vom miokardite. Biomeditsinskaya khimiya. 2012;58(5):530-538. In Russ.]
 9. Каримов Х.Я., Шевченко Л.И., Ставорова Е.Ю., Кузьмичева Е.Л. Состав кровезаменителя. Патент № IAP 05053 от 17.09.2012. (дата регистрации 17.06.2015). Дата получения 31.07.2015. Расмий ахборотнома. 2015;7(171):37-37. [Karimov Kh.Ya., Shevchenko L.I., Stavorova E.Yu., Kuz'micheva E.L. Sostav krovezamenitelya. Patent № IAP 05053 от 17.09.2012. (data registratsii 17.06.2015) Data polucheniya 31.07.2015. Rasmiy akhborotnom. 2015;7(171):37-37. In Russ.]
 10. Коваленко А.Л., Петров А.Ю., Суханов Д.С., Саватеева Т.Н., Романцов М.Г. Ремаксол-препарат для восстановления системы антиоксидантной защиты при поражении печени циклофосфаном в эксперименте. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2011;74(1):32-35. Kovalenko A.L., Petrov A.Yu., Sukhanov D.S., Savateeva T.N., Romantsov M.G. Remaksol-preparat dlya vosstanovleniya sistemy antioksidantnoy zashchity pri porazhenii pecheni tsiklofosfanom v eksperimente. Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya. 2011;74(1):32-35. In Russ.]
 11. Комарова С.А., Ибрагимова Л.А., Камилов Ф.Х. Изучение процессов свободнорадикального окисления и активности ферментов антиоксидантной защиты и их динамика в процессе лечения препаратом «Вобэнзим» у больных остеоартрозом. Пермский медицинский журнал. 2010;27(1):75-82. [Komarova S.A., Ibragimova L.A., Kamilov F.Kh. Izuchenie protsessov svobodnoradikal'nogo okisleniya i aktivnosti fermentov antioksidantnoy zashchity i ikh dinamika v protsesse lecheniya preparatom «Vobenzim» u bol'nykh osteoartrozom. Permskiy meditsinskiy zhurnal. 2010;27(1):75-82. In Russ.]
 12. Королюк М.А. Иванова Л.К., Майорова И.Г., Токарева В.А. Метод определения активности каталазы. Лабораторное дело. 1988;4:44-47. [Korolyuk M.A. Ivanova L.K., Mayorova I.G., Tokareva V.A. Metod opredeleniya aktivnosti katalazy. Laboratornoe delo. 1988;4:44-47. In Russ.]
 13. Левин Г.С., Султанов С.Л. Воспроизведение геморрагического шока у белых крыс // Сб. науч. тр. «Механизмы патологических процессов» Ташкент 1981;56-62. [Levin G.S., Sultanov S.L. Vosproizvedenie gemorragicheskogo shoka u belykh krys // Sb. nauch. tr. «Mekhanizmy patologicheskikh protsessov» Tashkent 1981;56-62. In Russ.]
 14. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции. Патол физиол и эксперимент терапия. 2011;1:3-19. [Luk'yanova L.D. Sovremennye problemy adaptatsii k gipoksii. Signal'nye mekhanizmy i ikh rol' v sistemnoy reguljatsii. Patol fiziol i eksperiment terapiya. 2011;1:3-19. In Russ.]
 15. Мхитарян В.Г., Бадалян Г.Е. Влияние пероксидированных и непероксидированных ненасыщенных жирных кислот на активность супероксиддисмутазы // Еришերիմնенап

- и կինիկական թժկության հանդես. 1978;18(6):7-12. Mkhitaryan V.G., Badalyan G.E. Vliyanie peroksidirovannykh i pereroksidirovannykh nenasyshchennykh zhirnykh kislot na aktivnost' superoksiddismutazy // Еրապերիմենտալ և կինիկական թժկության հանդես. 1978;18(6):7-12. In Russ.]
16. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия. Эксперимент и клин фармакол. 2013;76(5):37-47. [Novikov V.E., Levchenkova O.S. Novye napravleniya poiska lekarstvennykh sredstv s antigipoksicheskoy aktivnost'yu i misheni dlya ikh deystviya. Eksperiment i klin farmakol. 2013;76(5):37-47. In Russ.]
17. Ушков А.А., Соболь Ю.А., Половинкин Л.В., Устименко Е.О., Буряк А.И., Половинкина Т.И., Сорока Л.И. Показатели ферментативной антиоксидантной системы для оценки воздействия полизициклических ароматических углеводородов на здоровье работников производства. Здоровье и окружающая среда. 2013;22:215-218. [Ushkov A.A., Sobol' Yu.A., Polovinkin L.V., Ustimenko E.O., Bur'yak A.I., Polovinkina T.I., Soroka L.I. Pokazateli fermentativnoy antioksidantnoy sistemy dlya otsenki vozdeystviya polizyklicheskikh aromaticheskikh uglevodorodov na zdorovye rabotnikov proizvodstva. Zdorovye i okruzhayushchaya sreda. 2013;22:215-218. In Russ.]
18. Каган В.Е., Орлов В.Н., Прилипко Л.Л. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов. Итоги науки и техники. Серия «Биофизика». 1986;18:136. [Kagan V.E., Orlov V.N., Prilipko L.L. Problema analiza endogennykh produktov perekisnogo okisleniya lipidov. Itogi nauki i tekhniki. Seriya «Biofizika». 1986;18:136. In Russ.]
19. Carlberg I., Mannervik B. Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. J. Biol. Chem. 1975;250(14):5475-5480.
20. Kusano C., Ferrari B. Total Antioxidant Capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. J. Cell. Mol. Biol. 2008;7(1):1-15.
21. Lee J.W., Ko J., Ju C. et al. Hypoxia signaling in human diseases and therapeutic targets. Exp. Mol. Med. 2019;51:1-13. <https://doi.org/10.1038/s12276-019-0235-1>
22. Tietz W.B Clinical guide to laboratory tests. 4-th ed. Ed. Wu A.N.B. USA, Sounders Company. 2006:1791-1798.

ЎТКИР ҚОН ЙЎҚОТИШ ОҚИБАТИДАГИ ГИПОКСИЯДА ЯНГИ АНТИГИПОСАНТ ВА АНТИОКСИДАНТ МОДДАНИНГ ТАЪСИРИНИ ТАДҚИҚ ҚИЛИШ

Ж.Д. Хужахмедов, Л.И. Шевченко, Х.Я. Каримов, Т.Р.Алимов, Р.К. Рахманбердиева

Республика ихтисослаштирилган гематология илмий-амалий тиббиёт маркази,
Тошкент, Ўзбекистон

Мақсад. Ўткир қон йўқотиш оқибатидаги гипоксияда янги антигипосант ва антиоксидант модда Реноамбрасолнинг таъсирини тажрибада ўрганиш.

Материал ва услублар. Тажриба ўткир қон йўқотиш моделлаштирилган 60 та каламушларда ўтказилди. Янги қон ўрнини босувчи модданинг самарадорлигини реополиглютиндори воситаси билан таққослаш орқали ўрганилди ва бунда жониворларнинг қонидаги, миокардидаги ва жигаридаги гипоксия чақиривчи омил (HIF-1 α)нинг миқдори, липидларнинг перекисли оксидланishi (ЛПО) жараёнининг изчиллиги, антиоксидант ҳимоя тизими (AOT) ферментларининг фаоллиги баҳоланди.

Натижалар. Қондаги HIF-1 α миқдорининг 4,1 маротаба ($p<0,0001$) ошиши, қонда, миокардда ва жигардаги ЛПОнинг фаоллашви фонида АОТ ферментлари фаоллигининг сусайиши қон йўқотиш гипоксия билан кечишига ишора қилди. Реноамбрасол қўллангандан сўнг қон зардобидаги HIF-1 α миқдори қон йўқотишдан бевосита кейинги кўрсаткичга нисбатан 2,9 маротаба ($p<0,0001$) камайди ва бу кўрсаткич реополиглютин қўллагандаги кўрсаткичдан 44,4% пастроқ бўлди ($p<0,0001$). Реноамбрасол қўлланилганидан сўнг қондаги, миокарддаги ва жигардаги ЛПО/АОТ мувозанати тўлиқ тикланди.

Хулоса. Ўткир қон йўқотишларда реоамбрсол янги воситаси яққол намоён бўлган антигипоксант таъсирига эга бўлиб, у тажриба жониворларининг қонидаги гипоксия чақирувчи омил HIF-1 α нинг миқдорини камайтириш хусусиятига эга. Ушбу моддани ўткир қон йўқотишларда қўллаш қондаги, миокарддаги ва жигардаги липопероксидация жараёнларини сусайтиради ва АОТ ферментларининг фаоллигини оширади, булар эса унинг антиоксидант таъсирини кўрсатади.

Калит сўзлар: қон ўрнини босувчи модда, реоамбрсол, ўткир қон йўқотиш, липидларининг перекисли оксидланиш (ЛПО), антиоксидант тизим (АОТ), гипоксия чақирувчи омил (HIF-1 α).

Сведения об авторах:

Хужахмедов Жамол Джалилiddинович – доктор философии (PhD) медицинских наук, врач-гематолог, соискатель Республиканского научно-практического медицинского центра гематологии (РНПМЦГ), директор молекулярно-генетической лаборатории «GenoTexnologiya»; e-mail: 5420256@rambler.ru

Шевченко Лариса Ивановна – кандидат биологических наук, руководитель научно-исследовательского гранта, Республиканский научно-практический медицинский центр гематологии (РНПМЦГ) МЗ РУз, тел.: +998 712736339; e-mail: moriturus1958@mail.ru

Каримов Хамид Якубович – доктор медицинских наук, проф., руководитель отдела молекулярной медицины и клеточных технологий Республиканского научно-практического медицинского центра гематологии (РНПМЦГ) МЗ РУз; тел.: +998 71 2787540;

Алимов Тимур Рауфович – кандидат медицинских наук (PhD), врач-гематолог, старший научный сотрудник научно-исследовательского гранта Республиканского научно-практического медицинского центра гематологии (РНПМЦГ) МЗ РУз; тел.: +998 71273 6339; +998 935543103; e-mail: altirar@mail.ru (корреспондент)

Рахманбердиева Рано Каримовна – доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории химии высокомолекулярных растительных веществ Института химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова (ИХРВ) АН РУз, e-mail: rakhmanberdieva@mail.ru

Поступила в редакцию: 07.04.2021

Information about authors:

Khuzhakhmedov Zhamol Jaloliddinovich – Doctor of Philosophy (PhD) of Medical Sciences, hematologist, applicant for the Republican Scientific and Practical Medical Center of Hematology, director of the molecular genetic laboratory “GenoTexnologiya”; e-mail: 5420256@rambler.ru

Larisa Ivanovna Shevchenko – PhD, Head of Research Grant, Republican Scientific and Practical Medical Center of Hematology, Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, tel.: +998 712736339; e-mail: moriturus1958@mail.ru

Hamid Yakubovich Karimov – Doctor of Medicine, Professor, Head of the Department of Molecular Medicine and Cellular Technologies, Republican Scientific and Practical Medical Center of Hematology of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan; tel.: + 998 71 2787540;

Timur Raufovich Alimov – candidate of medical sciences (PhD), hematologist, senior researcher of the research grant of the Republican Scientific and Practical Medical Center of Hematology of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan; tel.: +998 71 273 6339; +998 935543103; e-mail: altirar@mail.ru (Corresponding author).

Rakhmanberdieva Rano Karimovna – Doctor of Chemistry, Leading Researcher, Laboratory of Chemistry of High-Molecular Plant Substances, Institute of Chemistry of Plant Substances named after acad. S.Yu. Yunusov AS RUz, e-mail: rakhmanberdieva@mail.ru

Received: 07.04.2021