

## ВЛИЯНИЕ ОСТРОГО ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6)

В эксперименте показано, что острый гипокинетический стресс в течение 4 ч у животных с высокой и низкой устойчивостью к гипоксии вызывает качественно одинаковые изменения функционального состояния и метаболической активности печени. Это выражается в гипотензии, брадикардии, снижении ректальной температуры, частоты дыхания и потребления кислорода, нарушении кислотно-основного равновесия с признаками лактацидоза. У животных нарушается экскреторная, антиоксидантная, ферментная функции печени, снижается ее энергетический потенциал. Степень изменений у низкоустойчивых к гипоксии выше, чем высокоустойчивых к гипоксии животных.

Ключевые слова: гипокинетический стресс, индивидуальная устойчивость к гипоксии, крысы, печень, метаболизм.

### Введение

В современном обществе гипокинезия превратилась в одну из важных медико-социальных проблем. Среди многочисленных причин снижения двигательной активности человека рассматривают развитие высокоавтоматизированных и механизированных отраслей производства, продолжительное обучение в различных учреждениях, возрастающую привычку к комфортному образу жизни, увеличение дорожно-транспортного травматизма, чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера и, как следствие, длительный постельный режим при различных заболеваниях пострадавших. Ограничение подвижности сопровождается стресс-синдромом, при котором характерные для стресс-реакции нарушения в организме преобладают над изменениями вследствие ограничения подвижности. При гипокинетическом стрессе развивается различная органопатология. Значительное напряжение испытывает печень, принимающая участие в поддержании энергетических и пластических резервов организма, а также в общих реакциях компенсаторно-приспособительного характера. В связи с этим актуален медико-биологический мониторинг функций печени при остром гипокинетическом стрессе для оценки адаптивных возможностей организма в экстремальных условиях. В формировании адаптивных реакций организма важное значение имеет индивидуальная стрессоустойчивость. Заслуживает внимания изучение изменений функционально-метаболической активности печени в зависимости от устойчивости организма к гипоксии, поскольку

гипоксический фактор является основным патогенетическим звеном в развитии органопатологии и на уровне организма определяет ее исход.

Цель работы – изучение влияния непродолжительного острого гипокинетического стресса на функционально-метаболическую активность печени животных с различной устойчивостью к гипоксии.

### Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 104 крысах линии Вистар массой 180–200 г (питомник «Рапполово» РАМН, Ленинградская обл.). Животных содержали в виварии в стандартных условиях освещения и питания при свободном доступе к воде и пище. Исследования осуществляли в соответствии «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ Минздрава РФ от 2003 г. № 267). Работа одобрена локальным комитетом по этике при Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. За 48 ч до моделирования острого гипокинетического стресса животных разделяли по устойчивости к гипоксии, поднимая их в барокамере на высоту 11 000 м со скоростью 50 м/с и экспозицией на высоте до возникновения первого агонального вдоха. Животные, выдерживающие воздействие гипоксии менее 5 мин, считались низкоустойчивыми (НУ), более 10 мин – высокоустойчивыми (ВУ). Острый гипокинетический стресс у животных вызывали иммобилизацией в течение 4 ч. Все животные были разделены на 4 группы:

- 1-я – интактные ВУ-крысы (1-й контроль);
- 2-я – интактные НУ-крысы (2-й контроль);

Зарубина Ирина Викторовна – ст. науч. сотр. каф. фармакологии Воен.-мед. акад. им. С.М. Кирова (194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6), д-р биол. наук проф., e-mail: [I.V.Zarubina@inbox.ru](mailto:I.V.Zarubina@inbox.ru).

Юнусов Исломуддин Айниддинович – докторант каф. фармакологии Воен.-мед. акад. им. С.М. Кирова, канд. мед. наук.

Шабанов Петр Дмитриевич – зав. каф. фармакологии Воен.-мед. акад. им. С.М. Кирова, д-р мед. наук проф., e-mail: [pdshabanov@mail.ru](mailto:pdshabanov@mail.ru)

3-я – ВУ-крысы, иммобилизованные в течение 4 ч;

4-я – НУ-крысы, иммобилизованные в течение 4 ч.

Частоту дыхательных движений у крыс подсчитывали визуально в течение 1 мин. Ректальную температуру измеряли медицинским термометром «ТПЭМ-1». Потребление кислорода у крыс определяли с помощью аппарата закрытого типа конструкции С.В. Миропольского. Показатели кислотно-основного состояния крови измеряли на приборе микро-аструп (Дания). Активность аланин- и аспаратаминотрансфераз (АлТ и АсТ) определяли стандартными наборами реактивов «Lachema» (Чехия). Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) оценивали по скорости окисления никотинамид-аденин-динуклеотида (НАДН), активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) определяли по реакции восстановления феррицианида калия сукцинатом под действием СДГ [5]. Активности всех изучаемых ферментов относили к содержанию белка в пробах, определяемого унифицированным методом О.Н. Lowry [9]. Содержание молочной и пировиноградной кислот определяли спектрофотометрическими методами [6]. Свободные аденин-нуклеотиды (АТФ, АДФ, АМФ) в охлажденной жидким азотом печени определяли тонкослойной хроматографией [2]. В качестве свидетелей использовали хроматографически чистые аденозин-5-моно-, ди- и трифосфаты фирмы «Sigma» (США). О детоксикационной функции печени судили по содержанию в крови мочевины, креатинина и калия, которое определяли с помощью стандартных наборов реактивов «Ольвекс» (Россия). Об экскреторной функции печени судили по содержанию бромсульфалеина (БСФ) в крови [5].

Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием стандартного пакета программ Statistika for Windows по общеизвестным методам вариационной статистики с оценкой значимости показателей и различий рассматриваемых выборок по t-критерию Стьюдента. Различия в сравниваемых группах считали достоверными при уровне значимости 95–99 % ( $p < 0,05–0,01$ ).

### Результаты и их анализ

Интактные животные с различной индивидуальной устойчивостью к гипоксии различались по метаболическим характеристикам печени, что, в целом, согласуется с данными литературы [3, 7]. УНУ к гипоксии крыс (2-я группа), представляющих определенную «группу риска» при экстремальных воздействиях, в печени были более выражены энергодефицит и лактацидоз, активность СДГ была ниже, чем у ВУ-крыс (1-я группа). В группе НУ к гипоксии крыс потребление кислорода, напряжение углекислого газа и содержание лактата в крови было выше, а напряжение кислорода и уровень пирувата в крови ниже, чем у ВУ-животных (табл. 1–5).

Первые 40 мин острого гипокнетического стресса сопровождалось возбуждением крыс, двигательным беспокойством, голосовой реакцией. Спустя 60 мин состояние возбуждения сменялось угнетением, достигавшим наибольшей глубины к концу иммобилизации животных. Иммобилизация животных в течение 4 ч, явля-

Таблица 1  
Влияние острого гипокнетического стресса на показатели системы внешнего дыхания, системы кровообращения и ректальной температуры у крыс ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )

Показатель	Группа			
	1-я	2-я	3-я	4-я
ЧД, мин	144 ± 13	140 ± 14	95,4 ± 7,7*	84,2 ± 6,6**
PO <sub>2</sub> , мл/(мин · 100 г <sup>-1</sup> )	4,52 ± 0,25	5,63 ± 0,27	3,75 ± 0,14*	4,18 ± 0,15**
t <sub>p</sub> , °C	38,8 ± 0,3	38,6 ± 0,4	36,7 ± 0,3*	35,5 ± 0,2**
АД, мм рт. ст.	131 ± 4	129 ± 5	122 ± 4*	110 ± 6**
ЧСС, уд/мин	479 ± 9	483 ± 11	372 ± 9*	360 ± 11**

Здесь и в табл. 2–5: \* по сравнению с 1-й группой,  $p < 0,05$ ;  
\*\* по сравнению со 2-й группой,  $p < 0,05$ .

Таблица 2  
Влияние острого гипокнетического стресса на изменение показателей кислотно-основного состояния и содержание лактата и пирувата в крови крыс ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )

Показатель	Группа			
	1-я	2-я	3-я	4-я
pH, -logH <sup>+</sup>	7,56 ± 0,02	7,44 ± 0,02	7,22 ± 0,01*	7,10 ± 0,03**
PO <sub>2</sub> , мм	98,76 ± 0,44	89,32 ± 0,47	94,23 ± 0,51*	80,14 ± 0,42**
Pco <sub>2</sub> , мм	34,45 ± 0,42	41,42 ± 0,44	39,58 ± 0,34*	46,90 ± 0,41**
BE	-3,12 ± 0,24	-4,21 ± 0,26	-4,13 ± 0,26*	-5,54 ± 0,27**
Лактат, мкмоль/г	2,00 ± 0,12	2,21 ± 0,13	3,55 ± 0,24*	3,82 ± 0,31*
Пируват, мкмоль/г	0,38 ± 0,02	0,30 ± 0,03	0,29 ± 0,14*	0,18 ± 0,16*

pH, -logH<sup>+</sup> – pH крови; PO<sub>2</sub> – напряжение кислорода в крови;  
Pco<sub>2</sub> – напряжение углекислоты; BE – дефицит буферных оснований в крови.

Таблица 3  
Содержание мочевины, креатинина и калия (ммоль/л) в крови крыс при остром гипокнетическом стрессе

Показатель	Группа			
	1-я	2-я	3-я	4-я
Калий, ммоль/л	4,2 ± 0,8	4,9 ± 0,6	6,2 ± 0,2*	7,6 ± 0,4**
Креатинин, ммоль/л	57,21 ± 12,1	62,15 ± 14,1	64,2 ± 16,2*	72,4 ± 12,2**
Мочевина, ммоль/л	7,1 ± 6,2	7,5 ± 6,3	8,4 ± 5,1*	8,8 ± 5,6**

Таблица 4

Активность ферментов в крови и печени крыс при остром гипокинетическом стрессе ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )

Показатель	Группа			
	1-я	2-я	3-я	4-я
АлТ в крови, мкмоль/мл·ч	1,63 ± 0,23	1,71 ± 0,21	2,55 ± 0,34*	3,27 ± 0,25*
АсТ в крови, мкмоль/мл·ч	1,25 ± 0,24	1,29 ± 0,27	1,49 ± 0,21**	1,98 ± 0,24*
АлТ в печени, мкмоль/г ткани·ч	86,18 ± 5,23	87,22 ± 3,22	79,80 ± 5,11*	74,23 ± 3,11*
АсТ в печени, мкмоль/г ткани·ч	11,43 ± 1,28	12,32 ± 2,22	9,34 ± 2,44*	9,27 ± 3,41*
ЛДГ в печени, мкмоль /ч /мг белка	0,51 ± 0,03	0,65 ± 0,05	0,64 ± 0,06*	0,87 ± 0,06**
СДГ в печени, нмоль/мин/мг белка	8,80 ± 0,21	7,13 ± 0,14	10,50 ± 0,17*	8,35 ± 0,18**

ющаяся мощным стрессорным воздействием, вызывала изменение показателей системы внешнего дыхания и кровообращения у крыс с различной устойчивостью к гипоксии. У ВУ к гипоксии крыс (3-я группа) частота дыхания снижалась на 34 %, а у НУ к гипоксии животных (4-я группа) дыхание урежалось на 40 %, по-

нения основных функциональных систем были более выражены у НУ к гипоксии животных.

В крови ВУ и, особенно, НУ к гипоксии животных достоверно возрастало содержание лактата на фоне снижения пирувата, что свидетельствовало о преобладании анаэробных процессов над аэробными (см. табл. 2).

Содержание адениннуклеотидов в печени крыс при остром гипокинетическом стрессе ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )

Показатель	Группа			
	1-я	2-я	3-я	4-я
АТФ, мкмоль/г	4,29 ± 0,22	3,27 ± 0,23	3,01 ± 0,21*	2,01 ± 0,14**
АДФ, мкмоль/г	0,52 ± 0,04	0,72 ± 0,03	0,64 ± 0,14*	0,98 ± 0,16**
АМФ, мкмоль/г	0,30 ± 0,03	0,57 ± 0,04	0,39 ± 0,06*	0,85 ± 0,04**

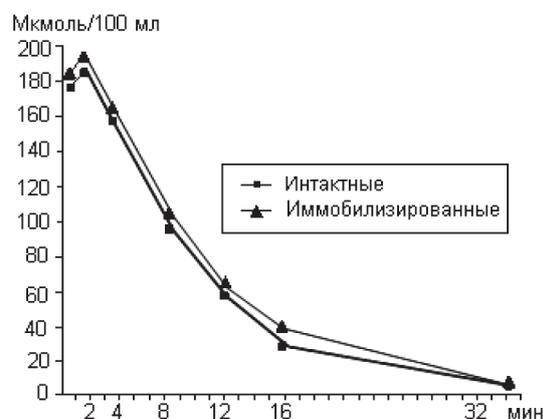
требление кислорода снижалось на 17 и 26 % соответственно (см. табл. 1). Артериальное давление, представляющее одну из основных гемодинамических констант, и частоту сердечных сокращений считают информативными показателями в оценке состояния при экстремальных воздействиях. При остром гиподинамическом стрессе у крыс с высокой устойчивостью к гипоксии артериальное давление снижалось на 7 и 22 %, уменьшалась частота сердечных сокращений.

У НУ к гипоксии животных артериальное давление снижалось на 15 и 25 %, сокращалась частота сердечных сокращений. В обеих группах животных снижались значения ректальной температуры, что рассматривается как целесообразная пассивная приспособительная реакция, позволяющая ограничить энергозатраты организма в ответ на травму [8]. Эта неспецифическая защитная реакция имеет позитивное значение лишь короткое время, а при длительном угнетении процессов терморегуляции страдают функции жизненно важных центров. В то же время, величина ректальной температуры служит объективным показателем генерализованной реакции системы микроциркуляции, и ее снижение при иммобилизации обусловлено спасительным эффектом, развившимся под влиянием эмоционально-болевого фактора. Все изме-

Таблица 5  
Дисфункция капиллярного звена микроциркуляторного русла при иммобилизации приводит к снижению доставки кислорода к тканям и, как следствие этого, усилению гликолитических процессов в клетках с образованием избыточного количества нелетучих кислот и изменениям кислот-

но-основного состояния крови. Накопление недоокисленных продуктов в крови животных через 4 ч иммобилизации сопровождалось снижением содержания буферных оснований и рН крови, увеличением напряжения углекислого газа. Такие показатели, как рН крови, величина буферных оснований, напряжение кислорода и углекислого газа, являются прогностически значимыми и могут использоваться для оценки резистентности организма [1].

Среди многих функциональных исследований печени проба с бромсульфалеином оказы-



Экскреция бромсульфалеина из крови интактных и иммобилизованных животных.

ваются положительной даже при относительно незначительном токсичном повреждении печени и свидетельствует о нарушении ее экскреторной функции. Пробы с БСФ животных с различной устойчивостью к гипоксии достоверно не отличались. Кривые элиминации БСФ у интактных крыс с высокой и низкой устойчивостью к гипоксии были сходны и имели типичный 2-фазный характер (рисунок).

Через 2 мин после введения краски животным в крови определяли максимум концентрации БСФ. Затем содержание БСФ в крови крыс интенсивно падало, вплоть до 8-й минуты, после чего снижение концентрации краски замедлялось. Спустя 32 мин после введения, определяли лишь следы красителя. После достижения равномерного распределения красителя в крови его удаление из крови отражает активную экскрецию БСФ клетками печени, «истинную элиминацию». В первой фазе часть красителя очень быстро накапливается в печени. Вторая фаза определяется выведением БСФ в желчные ходы. Фазы протекают одновременно и не могут четко разграничиваться. Кривая экскреции БСФ в крови иммобилизованных в течение 4 ч животных была сходна с таковой у интактных крыс. Можно заключить, что печень интактных и иммобилизованных животных практически очищала кровь от БСФ за исследуемый промежуток времени.

При остром гипокинетическом стрессе у животных с различной устойчивостью к гипоксии изменялась антитоксическая функция печени. К окончанию 4 ч иммобилизации в крови ВУ-крыс и особенно НУ-животных возрастало содержание мочевины, креатинина и калия (см. табл. 3). Эти данные свидетельствуют не только об изменении детоксицирующей функции печени при остром гипокинетическом стрессе, но и возможном нарушении работы почек.

Нарушение обменных процессов ведет к повышению в кровяном русле избыточного количества печеночно-специфических ферментов, что рассматривается как ранний и постоянный показатель неспецифического адаптационного синдрома и, в то же время, может свидетельствовать о развитии цитолитического синдрома. Выход веществ из клеток служит показателем повреждения плазматических мембран. При остром гипокинетическом стрессе активность АлТ и АсТ в крови ВУ к гипоксии крыс увеличивалась на 56 и 19 %, в крови НУ-животных – на 91 и 53 % соответственно (см. табл. 4). Наряду с этим в печени ВУ к гипоксии крыс активность АлТ и АсТ снижалась на 7 и 18 %, а в печени НУ-животных – на 15 и 25 % соответственно.

В печени у ВУ-крыс и особенно НУ-крыс к гипоксии животных увеличивалась активность ЛДГ на 25 и 34 %, что свидетельствует об анаэробном пути метаболизма в условиях 4 ч острого гипокинетического стресса. Известно, что в условиях анаэробноза основным источником энергии становится окисление флавинозависимых субстратов и, в первую очередь, сукцината, окисление которого не зависит от содержания дефицитного при гипоксии окисленного НАД [4]. Действительно, в печени ВУ-крыс активность СДГ увеличивалась на 19 %, в печени НУ к гипоксии животных – на 17 %.

В механизмах адаптации организма к экстремальным факторам значительная роль принадлежит энергетическому обмену. Острый гипокинетический стресс нарушал энергетическое равновесие в печени животных. В печени ВУ к гипоксии крыс на 30 % снижалось содержание АТФ на фоне увеличения содержания АДФ и АМФ на 23 и 30 % соответственно (см. табл. 5). Содержание АТФ в печени НУ к гипоксии крыс снижалось на 39 %, а уровень АДФ и АМФ увеличивался на 36 и 49 % соответственно. Изменения адениннуклеотидного пула были наиболее выражены в группе НУ к гипоксии животных.

Таким образом, индивидуальная устойчивость к гипоксии имеет важное значение в изменениях основных функциональных систем организма и метаболизма печени при остром гипокинетическом стрессе и может обуславливать степень декомпенсации функционально-метаболической активности печени.

### Выводы

1. Интактные низкоустойчивые к гипоксии животные отличаются от высокоустойчивых более высоким потреблением кислорода, напряжением углекислого газа, уровнем лактата в крови, более низким напряжением кислорода и содержания пирувата в крови и печени, энергетическим потенциалом.

2. Острый гипокинетический стресс в течение 4 ч у животных с высокой и низкой устойчивостью к гипоксии вызывает качественно одинаковые изменения функционального состояния и метаболической активности печени. Это выражается в гипотензии, брадикардии, снижении ректальной температуры, частоты дыхания и потребления кислорода, нарушении кислотно-основного равновесия с признаками лактацидоза. У животных с различной стрессоустойчивостью к гипоксии нарушается экскреторная, антитоксическая, ферментная функции печени, снижается ее энергетический потенциал.

3. Степень изменений у низкоустойчивых к гипоксии выше, поскольку высокоустойчивые к гипоксии животные обладают более мощными компенсаторными механизмами.

#### Литература

1. Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Молекулярная фармакология антигипоксантов . – СПб. : Н-Л, 2004. – 368 с.

2. Зарубина И.В., Криворучко Б.И. Разделение и прямое количественное определение адениннуклеотидов на силуфоле // Укр. биохим. журн. – 1982. – Т. 54, № 4. – С. 437–439.

3. Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Значение болевой чувствительности для устойчивости к иммобилизационному стрессу // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2012. – № 1. – С. 44–48.

4. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2011. – № 1. – С. 2–18.

5. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). – Л. : Из-во ЛГУ, 1982. – С. 207–212.

6. Модификация бромсульфалеиновой пробы для изучения функционального состояния печени у крыс / Л.И. Израйлет, В.Н. Соломинский, Т.Н. Шибаяева, В.Н. Слинко // Гигиена и санитария. – 1976. – Вып. 3. – С. 59–61.

7. Юнусов И.А., Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Значение болевой чувствительности для метаболической активности печени при компрессионной травме // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях – 2009. – № 4. – С. 59–61.

8. Pathophysiological process of traumatic vascular spasm in multiple crush injury / J.G. Yan, D.J. Rowe, W. Dzwierzynski, Y.H. Yan [et al.] // J. Reconstr. Microsurg. – 2007. – Vol. 23, N 5. – P. 237–242.

9. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, N 1. – P. 265–275.

Zarubina I.V., Yunusov I.A., Shabanov P.D. Effect of acute hypokinetic stress on liver functions // *Mediko-biologicheskie i socialno-psihologicheskie problemy bezopasnosti v chrezvychanyh situaciiakh* [Medical-Biological and Social-Psychological Issues of Safety in Emergency Situations]. – 2013. – N 4. – P. 61–65.

The Kirov Military medical Academy (Russia, St. Petersburg, Academica Lebedeva Str., 6)

Abstract. An acute 4-hour hypokinetic stress was experimentally shown to induce qualitatively identical changes in the liver functional state and metabolic activity in rats with high or low resistance to hypoxia. This manifested in hypotension, bradycardia, decreased rectal temperature, respiration rate and oxygen intake as well as in disordered acid-alkaline balance with lactic acidosis signs. The rats demonstrated excretory, antitoxic and enzyme liver dysfunctions, with reduced energy potential. The degree of changes in the low-resistant rats was higher than in high-resistant animals.

Keywords: hypokinetic stress, individual resistance to hypoxia, rats, liver, metabolism.

Zarubina Irina Viktorovna – Doctor of biol. sci., Prof., senior scientist, Pharmacology Department of Kirov Military medical Academy (194044, Russia, St. Petersburg, Academica Lebedeva Str., 6); e-mail: [I.V.Zarubina@inbox.ru](mailto:I.V.Zarubina@inbox.ru).

Yunusov Islomuddin Ayniddinovich – Ph, Pharmacology Department of Kirov Military medical Academy (194044, Russia, St. Petersburg, Academica Lebedeva Str., 6).

Shabanov Petr Dmitrievich – MD, Prof., Head of Pharmacology Department, Kirov Military medical Academy (194044, Russia, St. Petersburg, Academica Lebedeva Str., 6); e-mail: [pdshabanov@mail.ru](mailto:pdshabanov@mail.ru).