

УДК 001.890.572

А.Н. Мошкова<sup>1</sup>, Т.Ф. Сергеева<sup>2</sup>, Д.В. Щитова<sup>1</sup>**СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИНТЕНСИВНОСТИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО  
ОКИСЛЕНИЯ В НЕРВНОЙ ТКАНИ ПРИ ИШЕМИИ РАЗНОЙ ЭКСПОЗИЦИИ**Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева<sup>1</sup>,  
Нижегородская государственная медицинская академия<sup>2</sup>

**Цель работы:** Методами математического анализа количественной зависимости между параметрами  $I_{\max}$  (максимальная интенсивность, отражающая потенциальную способность биологического объекта к свободнорадикальному окислению, СРО),  $S$  (светосумма, показывающая содержание радикалов, соответствующих обрыву цепи СРО) и коэффициентом  $\text{tg}2$ , характеризующим антиоксидантный потенциал, в нервной ткани крыс при церебральной ишемии разной продолжительности оценить влияние степени тяжести нарушения гемодинамики мозга на формирование адаптации организма к развитию процессов свободнорадикального окисления.

**Результаты и область применения:** Установлено, что при длительной экспозиции ишемического воздействия до 30 дней уменьшается теснота связи между  $I_{\max}(y)$ ,  $S(y)$ ,  $\text{tg}2(x)$ , характеризующими систему СРО и антиоксидантную активность, и изменяется вид количественной зависимости от простого (линейного) к более сложному (кубическому).

**Выводы:** Рассмотрено предположение, что хроническая ишемия приводит к срыву адаптации организма к СРО.

*Ключевые слова:* свободнорадикальное окисление, антиоксидантная активность, ишемия, количественная зависимость, аппроксимирующая функция, статистический анализ.

**Введение**

На сегодняшний день ишемию мозга рассматривают как сложное сочетание нейрохимических процессов, основными из которых являются гипоксия, гипогликемия и ацидоз [1]. Метаболизм мозга имеет выраженный аэробный тип развития. В течение последних лет рядом авторов была выдвинута концепция о существенной патогенетической роли окислительного стресса в повреждении клеток мозга, обусловленных его ишемией [2-5]. Повреждающая роль активных форм кислорода зачастую связана не с их прямым действием на клеточные структуры, а инициацией каскада процессов, ведущих к клеточному повреждению и развитию патологических состояний организма. При этом практически нет данных о состоянии системы прооксиданты – антиоксиданты при длительном нарушении мозгового кровообращения.

Задачей данного исследования является изучение интенсивности процессов свободнорадикального окисления (СРО) и антиоксидантного потенциала нервной ткани при ишемии головного мозга, определение вида количественной зависимости и тесноты связи между показателями  $I_{\max}$  (максимальная интенсивность, отражающая потенциальную способность биологического объекта к СРО),  $S$  (светосумма, показывающая содержание радикалов, соответствующих обрыву цепи СРО) и коэффициентом  $\text{tg}2$ , характеризующим антиоксидантный потенциал нервной ткани, оценка влияния ишемии на коррекцию их взаимодействия.

**Результаты и их обсуждение**

Головной мозг весьма чувствителен к окислительному стрессу в силу высокого потребления кислорода и особенностей состава вещества мозга. Нейрональные мембраны содержат большое количество ненасыщенных липидов, а невысокий уровень антиоксидантных ферментов, витамина А и образование свободных радикалов в нейрохимических процессах, в свою очередь, создают дополнительные условия не только для окисления липидов, но и приводят к модификации белков, в том числе ферментов [6]. Продукты нарушенного метабо-

лизма в мозге при ишемии и гипоксии обладают мембранотоксичностью и способны стимулировать процессы СРО.

В основе фазного ответа клетки на ишемию лежит развитие митохондриальной дисфункции. Нарушение структуры митохондрий приводит к изменению процессов электронного транспорта, продукции аденозинтрифосфата (АТФ) и дальнейшему нарастанию окислительного стресса – одного из важнейших механизмов гибели нервной клетки при ишемии.

Для оценки интенсивности СРО были изучены параметры хемилюминесценции в общей митохондриальной фракции у интактных животных и при ишемии головного мозга различной продолжительности.

Считая экспериментальные показатели равнозначными, проведена статистическая обработка эмпирических значений  $I_{\max}$ ,  $S$ ,  $\text{tg}2$  [7, 8]. В табл. 1 представлены результаты обработки экспериментальных данных вместе с  $C_s$  – показателем точности определения средней, который не должен был превышать 9%.

Таблица 1

Результаты обработки экспериментальных данных

Условия эксперимента	$I_{\max} (y \pm \Delta)$	$C_s$	$S (y \pm \Delta)$	$C_s$	$\text{tg}2 (x \pm \Delta)$	$C_s$
Интактные животные	76,889±5,068 $n=18$	6,59%	783,474±52,433 $n=19$	6,69%	17,750±1,002 $n=18$	5,64%
Ишемия мозга, 30 мин	65,583±3,890 $n=12$	5,93%	594,400±37,086 $n=10$	6,23%	16,125±0,925 $n=12$	5,74%
Ишемия мозга, 18 ч	106,778±4,876 $n=18$	4,55%	1089,167±42,939 $n=18$	3,94%	22,694±1,102 $n=18$	4,86%
Ишемия мозга, 3 дня	90,364±6,212 $n=11$	6,87%	885,700±50,670 $n=10$	5,72%	18,864±1,552 $n=11$	8,23%
Ишемия мозга, 7 дней	89,063±7,642 $n=16$	8,58%	589,308±52,764 $n=13$	8,95%	22,962±1,917 $n=13$	8,35%
Ишемия мозга, 30 дней	98,100±7,293 $n=10$	7,43%	851,900±74,595 $n=10$	8,76%	24,003±1,947 $n=10$	8,00%

Анализ изменения равновесия в системе прооксиданты – антиоксиданты в нервной ткани при ишемии проводился по величине коэффициентов  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$ , представляющих соотношения:

$$K_1 = \frac{[I_{\max}]_{\text{эксп}}}{[I_{\max}]_{\text{контр}}}; K_2 = \frac{[S]_{\text{эксп}}}{[S]_{\text{контр}}}; K_3 = \frac{[\text{tg}2]_{\text{эксп}}}{[\text{tg}2]_{\text{контр}}}$$

Значения  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$  представлены в табл. 2.

Таблица 2

Показатели изменения равновесия в системе прооксиданты – антиоксиданты в нервной ткани при ишемии разной продолжительности

Условия эксперимента	$K_1 = \frac{[I_{\max}]_{\text{эксп}}}{[I_{\max}]_{\text{контр}}}$	$K_2 = \frac{[S]_{\text{эксп}}}{[S]_{\text{контр}}}$	$K_3 = \frac{[\text{tg}2]_{\text{эксп}}}{[\text{tg}2]_{\text{контр}}}$
Интактные животные	1	1	1
Ишемия мозга, 30 мин	↓ 0,85	↓ 0,76	↓ 0,90
Ишемия мозга, 18 ч	↑ 1,39	↑ 1,39	↑ 1,28
Ишемия мозга, 3 дня	↑ 1,18	↑ 1,13	↑ 1,06
Ишемия мозга, 7 дней	↑ 1,16	↓ 0,75	↑ 1,29
Ишемия мозга, 30 дней	↑ 1,28	↑ 1,09	↑ 1,37

Проведенные исследования показали, что острое нарушение гемодинамики мозга с увеличением экспозиции приводит к изменению интенсивности процессов СРО в нервной ткани, о чем свидетельствуют изменения значений коэффициентов  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$ .

При острой 30-минутной ишемии наблюдается снижение показателей  $S$  и  $I_{\max}$  и уменьшение величины  $\text{tg}2$  по сравнению с интактными крысами ( $K_1=0,76$ ;  $K_2=0,85$ ;  $K_3=0,90$ ; табл.2), что указывает на нарушение баланса в системе антиоксиданты – прооксиданты нервной ткани. Изменение интенсивности СРО может приводить к модификации структуры мембран и влиять на функционирование мембраносвязанных ферментов. В предыдущих исследованиях [9, 10] установлено, что при острой ишемии головного мозга (30 мин) происходит снижение активности мембраносвязанной митохондриальной креатинкиназы (миКК) и увеличение доли димера с 71 до 81%, что указывает на диссоциацию части октамеров на димеры. Структурными элементами мембран, с которыми связана миКК, являются фосфолипиды. Известно, что мембраносвязывающие свойства миКК существенно зависят от соотношения димер/октамер для белка и степени окисленности для липидов.

В наших исследованиях установлено, что с увеличением продолжительности периода нарушения мозгового кровообращения до 18 ч наблюдается увеличение интенсивности СРО, при этом в ответ на повышенный уровень образования свободных радикалов происходит рост антиоксидантной активности:  $K_1=1,39$ ;  $K_2=1,39$ ;  $K_3=1,28$  возрастают по сравнению с нормой (табл. 2). Увеличение продолжительности ишемического воздействия до 7 суток сопровождается снижением интенсивности СРО на фоне высокого значения  $\text{tg}2$  ( $K_3=1,29$ ) и достаточно низких значениях  $I_{\max}$  и  $S$  ( $K_1=1,16$  и  $K_2=0,75$  соответственно, табл. 2) по сравнению с 18-часовой ишемией, что может свидетельствовать о возрастании резистентности мембранных структур к повреждающему фактору ишемии. Известно, что липиды мембраны являются фактором, обеспечивающим нормальное функционирование ферментов [11]. Предыдущие исследования показали, что при увеличении продолжительности ишемии до 7 суток активность мембраносвязанной миКК возрастает до исходного уровня [9, 10]. Однако при увеличении продолжительности ишемии до 30 суток наблюдается снова рост интенсивности СРО (увеличение показателей  $I_{\max}$  и  $S$ ,  $K_1=1,28$  и  $K_2=1,09$  соответственно), что может указывать на нарушение процессов адаптации нервной ткани при длительных сроках ишемии. При 30-дневной ишемии был отмечен рост активности как миКК, так и цтКК относительно острой ишемии (30 мин) и интактных животных, что может быть связано с выходом миКК в цитоплазму. При этом активность димера составляла 93% от общей активности мембраносвязанной миКК, что может быть обусловлено нарушением структуры мембран митохондрий в результате окислительного стресса и диссоциацией октамеров миКК на димеры [9, 10].

Влияние ишемии на коррекцию интенсивности процессов СРО и антиоксидантного потенциала нервной ткани проявляется в изменении тесноты связи между выбранными показателями и переходе количественной зависимости от простой (линейной) к более сложной (кубической). Это положение наиболее выражено в зависимости между  $S(y)$  и  $\text{tg}2(x)$ , представленных в табл. 3 и 4.

Таблица 3

**Значения параметров линейной  $y=a_0x+a_1$  аппроксимации, коэффициентов корреляции  $r_{xy}$  и детерминации  $R^2$  количественной зависимости между показателями  $S(y)$  и  $\text{tg}2(x)$  в митохондриальной фракции мозга крыс при ишемии разной продолжительности**

Условия эксперимента	$a_0$	$a_1$	$r_{xy}$	Теснота связи	$R^2$
Ишемия, 30 мин	46,28	-105,7	0,97	Очень тесная	0,945
Ишемия, 18 ч	19,34	672,2	0,70	Значительная	0,502
Ишемия, 3 дня	26,77	406,8	0,90	Высокая	0,894
Ишемия, 7 дней	15,60	125,3	0,90	Высокая	0,872
Ишемия, 30 дней	6,647	646,8	0,60	Умеренная	0,386

Таблица 4

Значения параметров кубической  $y=a_0x+a_1x^2+a_2x^3+a_3$  аппроксимации, коэффициента детерминации  $R^2$  количественной зависимости между показателями  $S(y)$  и  $tg2(x)$  в митохондриальной фракции мозга крыс при ишемии разной продолжительности

Условия эксперимента	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$R^2$
Ишемия, 30 мин	-0,466	23,370	-331,80	1866,0	0,963
Ишемия, 18 ч	-0,037	3,723	-72,80	1234,0	0,994
Ишемия, 3 дня	0,050	-4,583	150,90	-587,3	0,970
Ишемия, 7 дней	0,002	-0,506	42,31	-211,4	0,916
Ишемия, 30 дней	0,010	-1,892	103,90	-706,3	0,974

Уравнение регрессии  $y=a_0x+a_1$  дает сведения о форме связи между величинами  $x$  и  $y$ . Качественное выражение силы связи между  $x$  и  $y$  определяется коэффициентом корреляции  $r_{xy}$ . Коэффициент корреляции  $r_{xy}$  изменяется от -1 до +1. Если  $r_{xy}<0$ , то корреляция между  $x$  и  $y$  отрицательная, при знаке плюс – положительная. При  $0<r\leq 0,3$  – связь слабая,  $0,3<r\leq 0,5$  – умеренная,  $0,5<r\leq 0,7$  – значительная,  $0,7<r\leq 0,9$  – высокая,  $0,9\leq r<1$  – очень тесная,  $r=1$  – функциональная. Оценкой значимости уравнения регрессии является коэффициент детерминации  $R^2$ . Величина  $0\leq R^2\leq 1$  показывает, какая доля результирующей (зависимой) переменной « $y$ » обусловлена вариацией объясняющей (независимой) переменной « $x$ ». Чем ближе  $R^2$  к 1, тем лучше регрессия аппроксимирует эмпирические данные, тем теснее наблюдения примыкают к линии регрессии. Из табл. 3 видно, что с увеличением экспозиции ишемического воздействия теснота связи между эмпирическими показателями СРО меняется от высокой и очень тесной до значительной. Величина коэффициента детерминации  $R^2$  при линейной  $y=a_0x+a_1$  парной регрессии между  $S(y)$  и  $tg2(x)$  с усилением тяжести нарушения гемодинамики мозга уменьшается до 0,386, в то время как при аппроксимации эмпирической зависимости между выбранными показателями кубическим многочленом  $y=a_0x+a_1x^2+a_2x^3+a_3$   $R^2$  стремится к 1 (табл. 4).

Таким образом, проведенные исследования показали, что нарушение гемодинамики мозга приводит к изменению равновесия в системе прооксиданты – антиоксиданты в нервной ткани: отмечается изменение таких параметров хемилюминесценции, как интенсивность максимальной вспышки  $I_{max}$ , светосумма медленной вспышки  $S$  и коэффициент  $tg2$ .

При статистическом анализе тесноты связи между эмпирическими данными наблюдается ее изменение от очень тесной до значительной и переход количественной зависимости от простой (линейной) к более сложной (кубической) при увеличении продолжительности периода нарушения мозгового кровообращения. Рассмотрено предположение, что хроническая ишемия приводит к срыву процесса адаптации нервной ткани, что может приводить к нарушению жизнедеятельности организма.

#### Библиографический список

1. **Афанасьев, В.В.** Патопфизиология и нейропротективная терапия ишемического повреждения головного мозга / В.В. Афанасьев, С.А. Румянцева, Е.В. Силина // Медицинский Совет. – 2008. – № 9–10. – С. 1–3.
2. **Биленко, Н.В.** Ишемические и реперфузионные повреждения органов / Н.В. Биленко. – М.: Медицина, 1989. – 368 с.
3. **Siesjo, B.K.** Role and mechanisms of secondary mitochondrial // Acta Neurochem. Suppl. – 1999. – Vol. 73. – P. 7–13.
4. **Mattson, M.P.** Energetics and oxidative stress in synaptic plasticity and neurodegenerative disorders / M.P. Mattson, D. Liu // Neuromolecular Med. – 2002. – Vol. 2, N 2. – P. 215–231.
5. **Kuznetsov, A.V.** Heterogeneity of mitochondria and mitochondrial function within cells as another level of mitochondrial complexity / A.V. Kuznetsov, R. Margreiter // Int. J. Mol. Sci. – 2009. – Vol. 10, N 4. – P. 1911–1929.

6. **Жданов, Г.Г.** Проблема гипоксии у реанимационных больных в свете свободнорадикальной теории / Г.Г. Жданов, М.Л. Нодель // Анестезиология и реаниматология. – 1995. – Т. 1. – С. 53–61.
7. Математические модели в биологии: учеб. пособие / Т. Ю. Плюсина [и др.]. – 2-е изд. доп. – М. – Ижевск: НИЦ: «Регулярная и хаотическая динамика», 2014. – 136 с.
8. Теория вероятностей и математическая статистика. Математические модели / В. Д. Мятлев [и др.]. – М.: Академия, 2009.
9. **Мошкова, А.Н.** Оценка степени тяжести ишемии по активности изоферментов креатинфосфокиназы мозга методом эмпирических зависимостей / А.Н. Мошкова [и др.] // Труды Нижегородского государственного технического университета им. Р.Е. Алексеева / НГТУ им. Р.Е. Алексеева. - Нижний Новгород, 2013. № 5 (102). – С. 362–366.
10. **Мошкова, А.Н.** Метод эмпирических зависимостей в оценке и прогнозировании динамики изменения активности олигмерных форм митохондриальной креатинкиназы при ишемии мозга / А.Н. Мошкова, Т.Ф. Сергеева, Е.М. Хватова // Труды Нижегородского государственного технического университета им. Р.Е. Алексеева / НГТУ им. Р.Е. Алексеева. – Нижний Новгород, 2013. № 3 (100). – С. 323–329.
11. **Хватова, Е.М.** Нуклеотиды мозга / Е.М. Хватова, А.Н. Сидоркина, Г.В. Миронова. – М.: Медицина, 1987. – 208 с.

*Дата поступления  
в редакцию 12.01.2017*

**A.N. Moshkova<sup>1</sup>, T.F. Sergeeva<sup>2</sup>, D.V. Schitova<sup>1</sup>**

## **STATISTICAL ANALYSIS OF THE INTENSITY OF FREE RADICAL OXIDATION IN NERVE TISSUE IN ISCHEMIA OF DIFFERENT EXPOSURE**

Nizhny Novgorod state technical university n.a. R.E. Alexeyev,  
Nizhny Novgorod State Medical Academy<sup>2</sup>

**Purpose:** The methods of mathematical analysis of quantitative relationship between such parameters as  $I_{\max}$  (maximum intensity which reflects the potential ability of the biological object to free radical oxidation),  $S$  (parameter showing the content of free radicals in termination of free radical oxidation) and coefficient  $\text{tg}2$ , characterizing the antioxidant capacity, in the nerve tissue of rats in cerebral ischemia of different duration were used to evaluate the effect of the severity of brain hemodynamic disturbance on the formation of the organism adaptation to free radical oxidation.

**The results and their application area:** Decrease in the correlation between  $I_{\max}(y)$ ,  $S(y)$ ,  $\text{tg}2(x)$ , characterizing free radical oxidation system and antioxidant activity, and changes in the form of quantitative dependence from a simple (linear) to the more complex (the cube) were revealed in ischemia of prolonged exposure up to 30 days.

**Conclusions:** Chronic ischemia was suggested to lead to the disturbance of the organism adaptation to free radical oxidation.

*Key words:* free radical oxidation, antioxidant activity, ischemia, quantitative relationship, approximating function, statistical analysis.