

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

ISSN 2074-5982 (print)

БИОМЕДИЦИНА

SCIENTIFIC JOURNAL

JOURNAL BIOMED

Том (Vol.) 15

2019

4



ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства России»

БИОМЕДИЦИНА

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2005 г.
4 выпуска в год

2019, Том 15, № 4

Scientific Center of Biomedical Technologies
of the Federal Medical and Biological Agency of Russia

JOURNAL BIOMED

SCIENTIFIC JOURNAL

Published since 2005.
Quarterly.

2019, Vol. 15, No. 4



МЕТОДОЛОГИЯ СОВМЕСТНОГО АНАЛИЗА ОДНОВРЕМЕННО ПРОТЕКАЮЩИХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

С.В. Оковитый¹, Н.В. Петрова², Е.Б. Шустов^{1,3,*}, М.А. Белых¹, Н.В. Кириллова¹,
О.М. Спасенкова¹, А.Г. Иванов¹, А.В. Караваева¹, Д.Ю. Ивкин¹, Ю.В. Фокин²,
Е.Л. Матвеев², О.В. Алимкина²

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
Минздрава России

197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

² ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий

Федерального медико-биологического агентства России»

143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, владение 1

³ ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»

192019, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д. 1

В статье выполнен анализ подходов к оценке совместного влияния одновременно реализующихся различных патологических процессов, которые могут формировать синдром «взаимного утяжеления». В медицине экстремальных состояний в качестве примеров таких процессов могут выступать одновременное воздействие гипоксии и гипертермии (горно-пустынная местность), гипоксии и низких температур (условия высокогорья, горные станции в Антарктиде), интенсивных физических нагрузок и эндогенной или комбинированной гипертермии (работа в изолирующем снаряжении или в условиях влажных тропиков), дыхания специализированными гипоксическими гелий-кислородными газовыми смесями в условиях гипербарии и глубоководных погружений, воздействие невесомости и вестибулярных нагрузок во время космических полетов и др. В клинической практике подобные состояния могут называться феноменом коморбидности, если патологические процессы взаимосвязаны едиными звеньями патогенеза, или феноменом полиморбидности, если патогенетическая связь между ними не выявляется. Показано, что клинические методы оценки коморбидности не могут быть перенесены на доклинические исследования, выполняемые с участием лабораторных животных. Представлена методология экспериментальной оценки взаимодействия двух моделируемых патологических процессов на одной группе животных, реализуемая по схеме двухфакторного эксперимента. Показано, что феномен «взаимного утяжеления» будет проявляться значимым взаимодействием между контролируемыми факторами и требует наличия аддитивного или супрааддитивного эффекта по ключевым параметрам экспериментальной модели. Реализуемость такого подхода проверена экспериментально на примере оценки взаимодействия двух независимых модельных процессов — хронической периодической умеренной нормобарической гипоксии, типичной для сонного апноэ, и неалкогольной жировой болезни печени. Установлено, что моделируемые процессы в основном реализуются как независимые факторы. Высококалорийное липидно-углеводное питание вызывает преимущественную перестройку углеводного обмена в тканях и оказывает частичное антагонистическое воздействие на метаболические проявления хронического гипоксического воздействия.

Ключевые слова: биомоделирование, аддитивность, двухфакторный эксперимент, интермиттирующая гипоксия, стеатоз печени

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Оковитый С.В., Петрова Н.В., Шустов Е.Б., Белых М.А., Кириллова Н.В., Спасенкова О.М., Иванов А.Г., Караваева А.В., Ивкин Д.Ю., Фокин Ю.В., Матвеев Е.Л., Алимкина О.В. Методология совместного анализа одновременно протекающих патологических процессов у лабораторных животных. *Биомедицина*. 2019;15(4):82–97. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-4-82-97>

Поступила 27.05.2019

Принята после доработки 08.08.2019

Опубликована 10.12.2019

METHODOLOGY OF JOINT ANALYSIS OF CONCURRENT PATHOLOGICAL PROCESSES IN LABORATORY ANIMALS

Sergey V. Okovitiy¹, Nataliya V. Petrova², Evgeniy B. Shustov^{1,3,*}, Mariya A. Belykh¹,
Nadezhda V. Kirillova¹, Ol'ga M. Spasenkova¹, Aleksey G. Ivanov¹, Anna V. Karavaeva¹,
Dmitriy Yu. Ivkin¹, Yuriy V. Fokin², Elena L. Matveyenko², Oksana V. Alimkina²

¹ Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health
of the Russian Federation

197376, Russian Federation, Saint Petersburg, Professora Popova str., 14A

² Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow region, Krasnogorsk district, Svetlye gory village, building 1

³ Institute of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
192019, Russian Federation, Saint Petersburg, Bekhtereva str., 1

This article sets out to analyze possible approaches to assessing the joint effect of simultaneously occurring and mutually aggravating pathological processes. In medicine of extreme environments, such examples include the joint effect of hypoxia and hyperthermia (desert mountain environments); hypoxia and low temperatures (high altitude locations, mountain stations in Antarctica); intense physical exertion and endogenous or combined hyperthermia (work in insulating protective equipment or in humid tropics); respiration using specialized hypoxic helium-oxygen gas mixtures under the conditions of hyperbaria and deep-sea dives; exposure to weightlessness and vestibular loads during spaceflight; etc. In clinical practice, such conditions may be referred either to the phenomenon of comorbidity, when the pathological processes have common pathogenesis links, or to the phenomenon of polymorbidity, when there is no clear pathogenetic link between the processes. This research shows that clinical methods currently used for assessing comorbidity cannot be directly applied in preclinical studies performed with the participation of laboratory animals. A methodology for assessing the interaction of two experimentally simulated pathological processes in one group of animals based on a two-factorial experiment is presented. It is shown that the phenomenon of mutual aggravation is manifested through a significant interaction between the controlled factors, thus requiring an additive or supra-additive effect according to the key parameters of the experimental model. The feasibility of the proposed approach was tested experimentally by evaluating the interaction of two independent simulated processes, i.e. chronic periodic moderate normobaric hypoxia (typical of sleep apnea) and non-alcoholic fatty liver disease. It was established that the simulated processes are mainly realized as independent factors. High-calorie lipid-carbohydrate nutrition causes a predominant rearrangement of carbohydrate metabolism in the tissues and has a partial antagonistic effect on the metabolic manifestations of chronic hypoxic effects.

Keywords: biomodelling, additivity, two-factorial experiment, intermittent hypoxia, liver steatosis

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Okovitiy S.V., Petrova N.V., Shustov E.B., Belykh M.A., Kirillova N.V., Spasenkova O.M., Ivanov A.G., Karavaeva A.V., Ivkin D.Yu., Fokin Yu.V., Matveyenko E.L., Alimkina O.V. Methodology of Joint Analysis of Concurrent Pathological Processes in Laboratory Animals. *Journal Biomed.* 2019;15(4):82–97. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-4-82-97>

Submitted 27.05.2019

Revised 08.08.2019

Published 10.12.2019

Введение

В современной медицине достаточно часто описываются ситуации одновременного присутствия у одного человека нескольких патологических процессов. В медицине экстремальных состояний в качестве примеров таких процессов могут выступать одновременное воздействие гипоксии и гипертермии (горно-пустынная местность), гипоксии и низких температур (условия высокогорья, горные станции в Антарктиде), интенсивных физических нагрузок и эндогенной или комбинированной гипертермии (работа в изолирующем снаряжении или в условиях влажных тропиков), дыхания специализированными гипоксическими гелий-кислородными газовыми смесями в условиях гипербарии и глубоководных погружений, воздействие невесомости и вестибулярных нагрузок во время космических полетов и др. В клинической практике подобные ситуации являются типичными для больных, госпитализированных в многопрофильные стационары. Так, в исследовании [23] было показано, что около половины пожилых пациентов с артритом имеют артериальную гипертензию, 20% — сердечно-сосудистые заболевания, а 14% — сахарный диабет типа 2. Более 60% пациентов с бронхиальной астмой указали на сопутствующий артрит, 20% — на сердечно-сосудистые заболевания и 16% — на сахарный диабет типа 2. При развитии терминальной почечной недостаточности, требующей заместительной терапии, частота хронических форм ИБС составляет 24,8%, а инфаркта миокарда — 8,7% [21]. В исследовании [22], включавшем 483 больных ожирением, было установлено, что около 75% пациентов имели сопутствующие заболевания, которыми в большинстве случаев являлись дислипидемия, артериальная гипертензия и сахарный диабет типа 2. Примечателен тот факт, что среди молодых пациентов с ожирением (18–29 лет) более двух хро-

нических заболеваний имели 22% мужчин и 43% женщин.

Необходимо учитывать, что при наличии нескольких одновременно выявляемых заболеваний их лечение требует назначения большого числа разноплановых по своим механизмам действия и фармакокинетике препаратов, что ведет к развитию полипрагмазии и непрогнозируемым вариантам лекарственного взаимодействия, существенно влияющим на эффективность и безопасность проводимой фармакотерапии. В то же время крайне затруднительной является и доклиническая оценка лекарственного взаимодействия в условиях одновременно протекающих патологических процессов. Тем самым разработка схем терапии подобных состояний остается эмпирической и зачастую не соответствует требованиям доказательной медицины.

Анализируя подобные ситуации, в 1970 г. A.R. Feinstein предложил понятие «коморбидность». Явление коморбидности было продемонстрировано на примере соматических больных острой ревматической лихорадкой, для которых худший прогноз был установлен для пациентов, страдающих одновременно несколькими заболеваниями [25]. В настоящее время под **коморбидностью** (с лат. *co* — вместе; *morbus* — болезнь) понимают наличие у пациента нескольких хронических заболеваний, связанных между собой общими звеньями патогенетического механизма. Близким, но различающимся по смыслу является понятие **полиморбидность**, характеризующее наличие у пациента нескольких независимых друг от друга заболеваний, не связанных друг с другом патогенетическими механизмами [10].

По российским данным, основанным на материалах патологоанатомических секций (n=3239) больных соматической патологией, поступивших в многопрофильный стационар по поводу декомпенсации хронического заболевания, частота наличия

нескольких патологических процессов составляет 94,2%. Наиболее часто встречались комбинации из двух и трех нозологий, но в единичных случаях (до 2,7%) у одного пациента могли встречаться до 6–8 болезней одновременно [1, 2].

Значимость коморбидности для клинической практики наглядно подчеркивается результатами исследования [30], в котором показано, что выживаемость пациентов с различными стадиями рака различается в зависимости от наличия или отсутствия коморбидности. На первой стадии рака выживаемость при наличии коморбидности составляет 17%, а при ее отсутствии — 83%, на второй — 14 и 76%, на третьей — 28 и 66%, а на четвертой — 0 и 50% соответственно.

В современной клинической практике существуют несколько общепризнанных методов измерения коморбидности, основанных на анализе количества и тяжести хронических заболеваний в структуре коморбидного статуса пациентов [24]. Все они основываются на различных балльных оценках тяжести основного и сопутствующего заболевания, на основе чего определяется доля сопутствующей патологии в тяжести состояния пациента. Необходимо учитывать, что коморбидность не может пониматься как результат сложения того или иного количества болезней и автоматического утяжеления состояния больного, для нее необходимо выявление новых существенных сторон взаимодействия организма и его болезней [14].

Действующая в настоящее время парадигма доказательной медицины предполагает широкую проверку теоретических концепций на лабораторных животных с последующей статистической обработкой полученных результатов. Однако в обширной литературе по методологии биомедицинских (доклинических) исследований нам не удалось найти подходов, в полной мере применимых к доклиническому изучению

феномена взаимного утяжеления при одновременном присутствии нескольких патологических процессов [18]. Причем даже принятые в клинической практике индексы оценки коморбидности не могут быть использованы в биомедицинских исследованиях в связи с практической невозможностью выявления нескольких необходимых для исследования заболеваний на одних и тех же лабораторных животных.

В связи с этим **целью** настоящей работы было разработать теоретические основы методологии оценки синдрома взаимного утяжеления и проверить ее реализацию на примере оценки совместного влияния двух независимых патологических процессов, воздействующих на одних и тех же лабораторных животных.

Теоретические основы методологии оценки взаимодействия патологических процессов на лабораторных животных

В биомедицинских исследованиях относительно просто могут моделироваться три вида взаимодействия патологических процессов — причинный, осложненный и ятрогенный. Для этого может быть применена фактически любая экспериментальная модель формирования изучаемой патологии, и задача исследователя будет сводиться к анализу динамики признаков анализируемых патологических процессов и их осложнений в ходе моделирования (причинный и осложненный виды взаимодействия) или на этапе лечения (для оценки ятрогенного взаимодействия). Так, для оценки причинного вида взаимодействия сахарного диабета и артериальной гипертензии необходимо будет в лонгитюдном исследовании у крыс с моделируемым сахарным диабетом (например, при использовании стрептозотоциновой модели сахарного диабета типа 1) обеспечить периодическое определение систолического

артериального давления у животных любым доступным экспериментатору методом. Подтверждением причинного вида взаимодействия этих патологических процессов будет статистически достоверное повышение уровня артериального давления, начиная с определенных сроков исследования.

Намного сложнее обстоит дело в ситуации необъясненного взаимодействия, существование которого теоретически возможно, но экспериментально еще не подтверждено. Основная сложность в данной ситуации связана с необходимостью моделирования на одной из групп животных совместного воздействия обоих изучаемых патологических процессов.

С методической точки зрения моделирование двух патологических процессов может быть последовательным или одновременным (параллельным). При последовательном процессе вначале проводится моделирование наиболее сложно и медленно формируемого стойкого, практически необратимого патологического состояния (например, ХСН, сахарного диабета, метаболического синдрома, опухолевого роста, аутоиммунного процесса и т. д.). У животных, у которых формирование этого фонового патологического процесса завершено и наличие требуемого патологического состояния верифицировано, в дальнейшем проводится моделирование второго, более быстро формируемого патологического процесса. При этом необходимо не только в динамике отслеживать маркерные показатели как первого, так и второго патологического состояния, но и использовать максимально широкий комплекс исследуемых параметров по разным функциональным системам организма, т. к. заранее предсказать, в отношении какой функциональной или метаболической системы может возникнуть взаимодействие изучаемых патологических процессов, не является возможным.

При одновременном (параллельном) способе моделирования предпочтительным является использование специализированных линий животных, являющихся генетической моделью фонового патологического процесса. Так, при исследовании коморбидности сахарного диабета типа 2 могут быть использованы мыши диабетической линии $B/Ks-Lepr^{db/+}$ (db/db), дефектные по рецептору лептина. При исследовании коморбидности по метаболическому синдрому могут быть использованы взрослые мыши линий NZB и CC57B₆, для которых характерны висцеральное ожирение, дислипидемия, гипергликемия и инсулинорезистентность [5], или крысы линии *fa/fa Zucker fatty rats (ZFR)* [12]. При исследовании коморбидности гипертензивных состояний могут быть использованы крысы линии SHR, для которых характерна спонтанная гипертензивная реакция. Появление в настоящее время специализированных гуманизированных линий животных, несущих определенные ключевые гены человека (например, гены ферментов систем детоксикации ксенобиотиков NAT и CYP, антигенов главного комплекса гистосовместимости (HLA) и др.), позволяет максимально приблизить результаты доклинических исследований к клинической практике [6–9].

Эта же схема (параллельного моделирования) изучения коморбидности может быть использована в ситуациях, когда оценивается возможное взаимодействие относительно быстро формируемых различных метаболических состояний или патологических процессов при хроническом воздействии ксенобиотиков в нетоксичных дозах, с патологическими процессами, вызываемыми воздействием различных физических (гипоксия, гипотермия, гипертермия, гипероксия, электромагнитные воздействия и др.) и сенсорно-стрессовых (измененные режимы светопериодичности, болевые, шумовые и др.) воздействия.

Вне зависимости от выбора последовательности моделирования общая схема исследования должна строиться на принципах двухфакторного дисперсионного эксперимента. Каждый из моделируемых патологических процессов при этом рассматривается как независимый контролируемый фактор (А, В), который должен быть представлен в минимальном варианте двумя состояниями (есть или нет), а в оптимальном — на трех уровнях выраженности (низкий, средний, высокий). Число экспериментальных групп при этом равно произведению градаций контролируемых факторов. В минимальном варианте таких групп должно быть 4: интактная (А0В0), с моделированием заболевания А (А1В0), с моделированием заболевания В (А0В1) и совместного моделирования обоих заболеваний (А1В1). В каждой группе должно быть равное число животных, не меньшее шести.

Статистическая обработка полученных результатов методом двухфакторного дисперсионного анализа позволит оценить влияние каждого из контролируемых факторов, их взаимодействия, а также случайных факторов на маркерные показатели выраженности патологических процессов. Мерой такого влияния может рассматриваться коэффициент детерминации (D) модели, показывающий, какая доля общей дисперсии анализируемого показателя может быть связана с контролируемыми (и их взаимодействием) или случайными факторами. Статистическая достоверность оценки влияния осуществляется по F-критерию для фактического числа степеней свободы.

Особое значение играет фактор взаимодействия (А*В) двух контролируемых факторов. Для того чтобы два патологических процесса (моделируемых заболевания) проявляли свойства патогенетической связности, необходимо, чтобы это взаимодействие было значимым и статистически достоверным. При этом результат такого взаимодей-

ствия может проявляться как дополняющий эффект, суммация, потенцирование или антагонизм.

Отсутствие достоверного взаимодействия контролируемых факторов свидетельствует о том, что они оказывают влияние на животных независимо друг от друга. Это означает, что между их процессами патогенеза нет общих звеньев, и вместо коморбидности имеет место феномен полиморбидности (невзаимодействующих, но одновременно присутствующих патологических процессов). При этом результат такого взаимодействия может проявляться как дополняющий эффект, суммация или антагонизм, но не потенцирование, для которого необходимо взаимодействие между факторами.

Следующим этапом анализа показателей, для которых выявлено достоверное взаимодействие двух патологических процессов, должен стать анализ на аддитивность взаимодействия. Для этого на основе среднегрупповых данных рассчитываются значения эффектов воздействия факторов А и В, а также эффект совместного их воздействия (А*В). Индекс аддитивности (ИА) определяется как отношение эффекта суммарного воздействия А*В к сумме эффектов А и В. Для аддитивного взаимодействия при однонаправленности эффектов расчетные значения ИА должны находиться в диапазоне от 0,9 до 1,1, а если они превышают 1,1, то выявленное взаимодействие будет носить супрааддитивный, потенцирующий характер. Именно такие значения (ИА>0,9) количественной оценки взаимодействия будут характерны для случаев коморбидности. В случае разнонаправленных эффектов обычно результатом взаимодействия является полный или частичный антагонизм, но в некоторых случаях может также встречаться усиление действия одного из факторов (извращенная реакция антагонизма, при которой действие второго фактора игнорируется организмом).

Экспериментальная оценка реализации предлагаемой методологии исследования взаимодействия двух патологических процессов

В качестве двух независимых патологических процессов, совместное воздействие которых может быть оценено как феномен «взаимного отягощения», исследовались моделирование неалкогольной жировой болезни печени (стеатоза печени, процесс А) и хроническая периодическая волнообразная нормобарическая гипоксия, характерная, например, для сонного апноэ (процесс В). Эти два процесса являются частыми для клинической практики и независимыми по механизму своего формирования. Поэтому гипотетически при одновременном воздействии этих двух патологических процессов может выявляться феномен взаимного отягощения. Для проверки этой гипотезы выполнен двухфакторный эксперимент.

Для моделирования стеатоза печени была использована гиперкалорийная высокожировая диета при избытке легкоусвояемых углеводов, которая создавалась путём добавления к стандартному корму (63%) топленого свиного жира (19%), сахарозы (10%) и изолированного соевого белка (8%) [31]. Такая диета оказывает влияние на жировой и углеводный обмен животных, способствуя развитию у них стеатоза печени и формированию дисгликемии. В качестве объекта исследования были взяты мыши линии C57BL/6/J, общая длительность воздействия — 24 недели.

Для моделирования эффектов гипоксии при сонном апноэ (патологический процесс В) была разработана новая экспериментальная модель длительного прерывистого гипоксического воздействия на лабораторных животных. Ее особенностью был отказ от моделирования частного патологического процесса, неизбежно сказывающегося на функциональном состоянии органов

и систем животных. Системную гипоксию организма при этом создавали методом хронического прерывистого (интермиттирующего) нормобарического гипоксического воздействия, являющегося максимально «чистым» с точки зрения возможных дополнительных патогенетических воздействий. Нормобарическая гипоксия создавалась с использованием мембранного гипоксикатора «БИО-НОВА-2004» («БИО-НОВА», Россия), адаптированного для работы с грызунами. Установка обеспечивает плавную регулировку концентрации кислорода 2–10% в гипоксической газовой смеси (ГГС). Производительность ГГС — не менее 5 л/мин. Процентное содержание кислорода в ГГС, подаваемой животным, регулируется и устанавливается с помощью газоанализатора, который встроено в установку.

В ходе предварительно проведенных исследований было установлено, что гибель лабораторных животных наблюдается при содержании кислорода в ГГС от 5,5% у неустойчивых к гипоксии животных до 3,4% для животных с индивидуально повышенным уровнем устойчивости к гипоксии [19]. В связи с этим, как не вызывающий у животных развития критической гипоксии, для длительного гипоксического воздействия был выбран режим работы гипоксикатора с подачей в камеру с животными 14% гипоксической смеси (парциальное давление кислорода во вдыхаемом воздухе 106,4 мм рт. ст., что соответствует гипоксии на высоте 3250 м над уровнем моря). Лабораторных животных помещали в камеру ежедневно на 6 ч в течение 24-х недель. В среднесуточном варианте такой режим будет соответствовать вдыханию гипоксической газовой смеси с содержанием кислорода 19,1%, парциальное давление кислорода 145,7 мм рт. ст., что примерно соответствует высоте 920 м над уровнем моря [15].

Длительное прерывистое гипоксическое воздействие не ориентировано на выявление

ние собственно эффектов гипоксии, т. к. в условиях гипоксии животные находятся только 6 ч/сут. Однако оно может быть использовано для оценки последствий хронического гипоксического воздействия, в т. ч. поведенческих, метаболических, иммунных и иных, связанных с длительным волнообразным воздействием на животных умеренной гипоксии. Можно предположить, что определяющим фактором, инициирующим перестройку метаболизма, будет выступать хронический гипоксический стресс, а реализация процессов перестройки метаболизма будет зависеть от экспрессии гипоксия-индуцибельного фактора HIF1 α в различных тканях [20].

Лабораторные животные (мыши-самцы линии C57BL6/J) были получены из ФГУП «ПЛЖ “Рапполово”» (Ленинградская обл.). Содержание животных осуществлялось в условиях сертифицированного вивария в соответствии с приказом МЗ РФ от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

Лабораторные животные после завершения 14-дневного карантина были рандомизированы на 4 группы: интактная (A0B0), группа с моделированием стеатоза печени (A1B0), группа с гипоксическим воздействием (A0B1) и группа с сочетанным воздействием моделирования стеатоза печени и гипоксического воздействия (A1B1). В каждой группе было по 8 животных начальной средней массой тела 18–21 г.

Биологический материал для исследования (кровь, ткани) у животных забирали на следующие сутки после прекращения гипоксического воздействия. По окончании эксперимента у наркотизированных хлоралгидратом животных забирали кровь методом кардиальной пункции в пробирки с активатором свертывания крови. Через 30 мин отстаивания кровь центрифугировали при 1000 об./мин в течение 10-ти мин, отделяли получившуюся сыворотку, затем вторично цент-

рифугировали при 4000 об./мин в течение 15-ти мин. Полученную сыворотку переносили во вторичные пробирки, которые затем загружали в анализатор.

На биохимическом анализаторе Stat Fax 1904+ (США) и «Эрба Лахема» (Чехия) определяли активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспаратаминотрансферазы (АсАТ) и γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП), уровни общего холестерина (ОХ), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и триглицеридов (ТГ), концентрацию глюкозы. Кроме того, в сыворотке крови определяли содержание нейтральных и основных карбонильных групп белков, а в эритроцитах — активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ).

Карбонильные группировки белков печени определяли по реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием окрашенных гидразонов [4, 28, 29]. Данные методы основаны на спектрофотометрической регистрации соединений при длинах волн 430 и 370 нм.

Определение активности каталазы крови проводили на основании способности перекиси водорода образовывать с солями молибдата стойкие окрашенные комплексы желтого цвета [27]. Активность супероксиддисмутазы определяли по скорости аутоокисления кверцетина в аэробных условиях [11]. В ткани печени определяли содержание суммарных липидов и гликогена; в скелетных мышцах — гликогена [3, 13].

Статистическую обработку результатов проводили методами описательной статистики, корреляционного и дисперсионного анализа с помощью пакета «Анализ данных» процессора электронных таблиц MS Office Excel. Достоверность различий между группами оценивалась по *F*-критерию дисперсионного анализа ANOVA. Двухфакторный дисперсионный анализ проводился в специализированной программе статистического анализа Statistica 10 [17].

Результаты и их обсуждение

У *интактных животных* исследованные метаболические показатели образывали несколько групп взаимокоррелирующих показателей. Первую группу можно условно обозначить как липидный фактор. К нему относятся такие показатели, как липиды печени, холестерин, триглицериды, АЛТ, АСТ, ГГТП и гликоген печени. Вторую группу показателей образуют глюкоза крови, гликоген мышц и ЛПНП. Такой фактор может быть интерпретирован как углеводный фактор. Третью группу образуют показатели содержания карбонильных групп (нейтральных и основных) в составе белков крови. Они тесно коррелируют между собой. Самостоятельными показателями у интактных животных является активность СОД и каталазы.

Результаты исследования метаболических последствий моделирования патологических процессов представлены в табл. 1.

При анализе табл. 1 обращает на себя внимание, что моделирование *жировой болезни печени* у лабораторных животных проявилось в изменении показателей не столько липидного, сколько углеводного обмена, что свидетельствует о завершении к моменту исследования перестройки метаболических процессов в организме лабораторных животных. Так, исследуемые показатели жирового обмена не имели статистически достоверных отличий от группы интактных животных, а значения их показателей в плазме были даже несколько ниже (например, холестерина — 91%, триглицеридов — 73%, ЛПНП — 82%). Выявленный прирост уровня липидов в печени (+10%) также не был статистически достоверным.

Таблица 1. Влияние моделирования патологических процессов на метаболические показатели у лабораторных животных

Table 1. Effect of simulated pathological processes on metabolic indicators in laboratory animals

Показатель	Ед. измерения	Значения в группах, М±m			
		интактные	ЖБП	гипоксия	ЖБП + гипоксия
<i>В плазме крови</i>					
Глюкоза	ммоль/л	8,3±0,80	5,7±0,70*	5,2±0,80*	7,3±0,80
АлАТ	МЕ/л	22,9±2,60	24,3±4,60	25,0±2,6	19,9±2,10
АсАТ	МЕ/л	65,7±7,30	81,1±14,20	78,8±9,4	72,5±10,50
ГГТП	МЕ/л	0,36±0,09	0,25±0,22	0,05±0,03*	0,36±0,12
Холестерин общий	ммоль/л	1,24±0,09	1,12±0,09	1,23±0,12	1,10±0,10
ЛПНП	ммоль/л	0,23±0,03	0,19±0,01	0,22±0,04	0,20±0,02
Триглицериды	ммоль/л	0,39±0,05	0,28±0,05	0,40±0,03	0,35±0,05
Нейтральные карбонильные группы	Д370 / мг белка	2,18±0,17	2,48±0,12	2,26±0,28	3,04±0,08*
Основные карбонильные группы	Д430 / мг белка	0,62±0,06	1,43±0,07*	0,88±0,15*	1,45±0,04*
<i>В эритроцитах</i>					
СОД	усп. ед. / мл цельной крови	34,2±1,7	36,25±0,77	0,05±0,01*	Следы*
Каталаза	Ммоль H ₂ O ₂ × 10 ³ / мин × мл цельной крови	22,5±0,5	30,6±0,6*	5,7±0,3*	7,0±0,4*
<i>В тканях</i>					
Липиды печени	мг/г ткани	0,06±0,01	0,07±0,01	0,05±0,01*	0,064±0,002
Гликоген печени	мг/г ткани	0,90±0,06	0,53±0,05*	0,19±0,02*	0,57±0,03*
Гликоген скелетных мышц	мг/г ткани	0,40±0,02	0,27±0,02*	0,09±0,01*	0,09±0,01*

Примечание: * — отличия от значений в группе интактных животных достоверны, $p < 0,05$.

Note: * — differences from the values in the group of intact animals are significant, $p < 0,05$.

В то же время содержание гликогена в печени и мышцах лабораторных животных достоверно снижалось на 41 и 33% соответственно, уровень глюкозы в крови снижался на 32%. Обращает на себя внимание также накопление в крови животных основных карбонильных групп (в 2,3 раза), что является маркером активного протекания процессов перекисного и свободнорадикального окисления. Об активации процессов ПОЛ также свидетельствует субстратная активация каталазы (+36%). Перестройка структуры корреляционных связей между показателями метаболизма лабораторных животных при моделировании стеатоза печени представлена в работе [16].

Наиболее выраженные изменения в биохимических показателях после длительного воздействия *умеренного кислородного голодания* отмечаются в клеточных структурах (клетки печени, скелетных мышц, эритроциты), в то время как показатели, регистрируемые в плазме крови животных, вероятно, в силу гомеостатических механизмов, намного более устойчивы к прерывистому гипоксическому воздействию. Это является закономерным, т. к. именно протекающие в клетках энергетические процессы являются объектом действия гипоксии, и последствия хронического волнообразного (интермиттирующего) гипоксического воздействия также должны иметь преимущественно внутриклеточную локализацию.

Так, возникающий при хронической кислородной недостаточности энергодефицит в первую очередь проявляется в мобилизации углеводных резервов организма, что характеризуется снижением гликогена в печени и скелетных мышц в 4–5 раз. Однако даже такой мощной активации гликолитических реакций в тканях оказывается недостаточно для компенсации энергодефицита, что вызывает дополнительную утилизацию глюкозы крови (снижение на 37%) и вовлечение липидов в качестве субстратов энергопродукции (снижение содержания липи-

дов в печени на 27%), переключение потока аминокислот с нефосфорилирующих процессов детоксикации на др. виды обмена (снижение активности субстратзависимого фермента детоксикации ГГТП на 14%).

Возникающий в условиях хронической гипоксии дефицит кислорода закономерно сопровождается угнетением антиоксидантной системы (снижение активности СОД практически в 1000 раз и каталазы в 4 раза) и накоплением недоокисленных продуктов (повышение содержания основных карбонильных группировок в белках крови на 41%).

Данные табл. 1 показывают, что по основным метаболическим показателям плазмы крови животные, подвергнутые комплексному воздействию моделирования жировой болезни печени и длительному прерывистому гипоксическому воздействию, не отличаются от интактных животных. Статистически достоверные отличия проявляются в отношении показателей содержания карбонильных групп белков крови (резкое нарастание основных групп, нарастание нейтральных групп), активности ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах СОД и каталазы (резкое угнетение), а также количества гликогена в печени и в скелетных мышцах (снижение).

С учетом того, что экспериментальное исследование было проведено по схеме двухфакторного анализа, выполнена оценка значимости двух контролируемых факторов: моделирования жировой болезни печени и длительного воздействия прерывистой гипоксии и их взаимодействия (табл. 2). Анализируемый критерий модели — коэффициент детерминации D — показывает, какая часть общей вариативности показателя может быть связана с тем или иным контролируемым фактором.

Таким образом, фактор моделирования жировой болезни существенно влияет на показатели липидов печени, нейтральных и основных карбонильных групп

Таблица 2. Влияние факторов моделирования жировой болезни печени (фактор А) и длительного воздействия прерывистой гипоксии (фактор В) и их взаимодействия (А*В)

Table 2. Effects of simulated liver fat hepatosis (factor A) and prolonged intermittent (factor B) hypoxia, as well as their interaction (A*B)

Показатель	Фактор А		Фактор В		Взаимодействие А*В		Суммарно контролируемые факторы, D	Неконтролируемые факторы, D
	D	p	D	p	D	p		
Липиды печени	0,17	0,008	0,41	0,001	0,03	0,20	0,61	0,39
Гликоген печени	0,001	0,28	0,40	2×10^{-6}	0,41	2×10^{-6}	0,81	0,19
Гликоген мышц	0,06	0,002	0,78	8×10^{-11}	0,05	0,007	0,90	0,10
НейтрКГ	0,17	0,03	0,08	0,14	0,10	0,09	0,35	0,65
ОснКГ	0,66	2×10^{-6}	0,03	0,21	0,008	0,48	0,69	0,31
Каталаза	0,05	3×10^{-8}	0,91	10^{-19}	0,03	6×10^{-6}	0,99	0,01
Глюкоза	0,02	0,47	0,04	0,28	0,25	0,015	0,31	0,69
АлАТ	0,008	0,68	0,001	0,96	0,009	0,68	0,02	0,98
АсАТ	0,02	0,47	0,01	0,60	0,02	0,57	0,05	0,95
ГГТП	0,06	0,23	0,006	0,71	0,08	0,20	0,15	0,85
ОХ	0,06	0,27	0,001	0,96	0,008	0,69	0,07	0,93
ТГ	0,05	0,30	0,09	0,15	0,009	0,65	0,15	0,85
ЛПНП	0,02	0,36	0,06	0,28	0,005	0,23	0,08	0,92

Таблица 3. Оценка аддитивности взаимодействия исследуемых патологических процессов

Table 3. Assessment of the additive interaction of the pathological processes under study

Показатель, ед. измерения	Влияние фактора			Сумма эф-фактов А+В	ИА, оценка взаимодействия
	А	В	А*В		
Гликоген печени, мг/г ткани	-0,37	-0,71	-0,33	-1,08	0,30, частичный антагонизм, игнорирование фактора В
Гликоген мышц, мг/г ткани	-0,13	-0,31	-0,31	-0,44	0,70, частичный антагонизм, игнорирование фактора А
Нейтр. КГ, Д37/мг белка	+0,30	+0,06	+0,86	+0,36	2,39, потенцирование
Осн КГ, Д430/мг белка	+0,81	+0,26	+0,83	+1,07	0,78, частичный антагонизм, игнорирование фактора В
Каталаза, Ммоль $H_2O_2 \times 10^3$ /мин*мл	+8,1	-16,8	-15,5	-8,7	Игнорирование фактора А
Глюкоза, ммоль/л	-2,6	-3,1	-1,0	-5,7	0,17, антагонизм
СОД, усл. ед./мл	+2,05	-33,7	-34,2	-31,65	Игнорирование фактора А
ГГТП, МЕ/л	-0,11	-0,31	0	-0,42	0,00, антагонизм

Примечание: в анализ были включены только те показатели, по которым в табл. 1 и 2 были выявлены достоверные влияния.

Note: the analysis included only those indicators, which demonstrated significant effects according to table 1 and 2.

белков крови. Фактор длительной прерывистой гипоксии существенно влияет на показатели липидов печени, гликогена печени и мышц, каталазы. Взаимодействие этих факторов существенно влияет на показатели гликогена печени и мышц, глюкозы крови, а также активность ферментов антиоксидантной защиты (СОД и каталазы) в эритроцитах. Обращает на себя внимание, что в вариативности показателей сыворот-

ки крови (глюкоза, ферменты, показатели жирового обмена) в основном проявляется действие неконтролируемых факторов.

Результаты оценки аддитивности выявленных показателей взаимодействия двух независимых патологических процессов при одновременном их моделировании на одних и тех же животных представлены в табл. 3.

Проведенные исследования подтверждают, что связанные с моделированием

жировой болезни печени изменения в энергетическом обмене клеток являются независимым фактором, могущим модифицировать (как усиливать, так и ослаблять) для отдельных показателей вызванное длительным прерывистым воздействием гипоксии состояние энергодефицита клеток. Наиболее отчетливое усиливающее (потенцирующее) действие проявляется для показателей уровня нейтральных карбонильных групп белков плазмы, а также в извращенной реакции показателей уровня основных карбонильных групп (игнорирование фактора гипоксии) и активности ферментов антиоксидантной защиты каталазы и СОД (игнорирование действия моделирования стеатоза печени), что свидетельствует о взаимном потенцировании исследуемыми патологическими состояниями процессов перекисного и свободнорадикального окисления липидов. В то же время избыточное поступление высококалорийных субстратов энергетического обмена при моделировании жировой болезни печени в условиях сформировавшегося нового шаблона активности реакций энергетического обмена будет способствовать сохранению углеводных ресурсов организма при гипоксическом энергодефиците. Данный эффект проявляется в меньшем снижении глюкозы

крови и запасов гликогена в печени после длительного гипоксического воздействия (полный или частичный антагонизм взаимодействия).

Заключение

Проведенное исследование показало, что в условиях одновременного воздействия на организм лабораторных животных высококалорийного липидно-углеводного питания (моделирование неалкогольной жировой болезни печени) и длительной прерывистой (интермиттирующей) умеренной нормобарической гипоксии (моделирование сонного апноэ) перестройка процессов метаболизма в основном осуществляется по типу независимых контролируемых факторов. Взаимоотягивающее взаимодействие (коморбидность) для этих моделируемых патологических процессов было выявлено только в отношении процессов перекисного окисления липидов и свободнорадикального окисления.

Тем самым в работе была подтверждена реализуемость предложенной методологии оценки взаимодействия двух одновременно протекающих патологических процессов у лабораторных животных в двухфакторном эксперименте их моделирования с оценкой аддитивности их взаимодействия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Белялов Ф.И. *Лечение болезней в условиях коморбидности*. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 544 с. [Beljalov F.I. *Lechenie boleznej v uslovijah komorbidnosti [Diseases treatment in the comorbidity conditions]*. Moscow: GEOTAR-Media, 2016. 544 p. (In Russian)].
2. Вёрткин А.Л., Скотников А.С. Роль хронического аллергического воспаления в патогенезе бронхиальной астмы и его рациональная фармакотерапия у пациентов с полипатией. *Лечащий врач*. 2009;4:61–67. [Vjortkin A.L., Skotnikov A.S. Rol' hronicheskogo allergicheskogo vospaleniya v patogeneze bronhial'noj astmy i ego ratsional'naja farmakoterapija u patsientov s polipatiej [Role of chronic allergic inflammation in a pathogeny of bronchial asthma and its rational pharmacotherapy at patients with a polyptahia]. *Lechashhij vrach [Attending doctor]*. 2009;4:61–67. (In Russian)].
3. Давченко Е.О., Чиркин А.А. Новые методические подходы к определению концентрации гликогена в тканях и некоторые комментарии по интерпретации результатов. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2010;3:25–28. [Davchenko E.O., Chirkin A.A. Novye metodicheskie podhody k opredeleniju kontsentratsii glikogena v tkanjah i nekotorye kommentarii po interpretatsii rezul'tatov [New methodical approaches to definition of concentration of a glycogen in fabrics and some comments on interpretation of results]. *Sudebno-medicinskaja jekspertiza [Forensic-medical examination]*. 2010;3:25–28. (In Russian)].
4. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Порогов Г.Е. Окислительная модификация белков

- сыворотки крови человека, метод ее определения. *Вопр. мед. химии*. 1995;41(1):24–26. [Dubinina E.E., Burmistrov S.O., Hodov D.A., Porotov G.E. Okislitel'naja modifikatsija belkov syvorotki krovi cheloveka, metod ee opredelenija [Oxidizing modification of proteins of human blood serum, method of its definition] *Vopr. med. himii [Questions of medical chemistry]*. 1995;41(1):24–26. (In Russian)].
5. Каркищенко В.Н., Клесов Р.А., Степанова О.И., Баранова О.В. Новые биомодели метаболического синдрома. *Биомедицина*. 2018;4:18–28. [Karkischenko V.N., Klesov R.A., Stepanova O.I., Baranova O.V. Novye biomodeli metabolicheskogo sindroma [New biomodels of a metabolic syndrome]. *Biomedicine*. 2018;4:18–28. (In Russian)].
 6. Каркищенко В.Н., Рябых В.П., Болотских Л.А., Семенов Х.Х., Капанадзе Г.Д., Петрова Н.В., и др. Физиолого-эмбриологические аспекты создания трансгенных мышей с интегрированными генами NAT1 и NAT2 человека. *Биомедицина*. 2016;1:52–65. [Karkischenko V.N., Ryabykh V.P., Bolotskikh L.A., Semenov Kh.Kh., Kapanadze G.D., Petrova N.V., et al. Fiziologo-embriologicheskie aspekty sozdaniya transgennyh myshey s integrirovannymi genami NAT1 i NAT2 cheloveka [Physiological and embryological aspects of creating transgenic mice with integrated human NAT1 and NAT2 genes]. *Biomedicine*. 2016;1:52–65. (In Russian)].
 7. Каркищенко В.Н., Рябых В.П., Каркищенко Н.Н., Дуля М.С., Езерский В.А., Колоскова Е.М., и др. Молекулярно-генетические аспекты технологии получения трансгенных мышей с интегрированными генами N-ацетилтрансферазы (NAT1 и NAT2) человека. *Биомедицина*. 2016;1:4–17. [Karkischenko V.N., Ryabykh V.P., Karkischenko N.N., Dulya M.S., Ezerskiy V.A., Koloskova E.M., et al. Molekulyarno-geneticheskiye aspekty tekhnologii polucheniya transgennykh myshey s integrirovannymi genami N-atsetiltransferazy (NAT1 i NAT2) cheloveka [Molecular and genetic aspects of technology for producing transgenic mice with integrated N-acetyltransferase genes (NAT1 and NAT2) in humans]. *Biomedicine*. 2016;1:4–17. (In Russian)].
 8. Каркищенко Н.Н., Рябых В.П., Колоскова Е.М., Каркищенко В.Н. Создание гуманизированных мышей для фармакотоксикологических исследований (успехи, неудачи и перспективы). *Биомедицина*. 2014;3:4–22. [Karkischenko N.N., Ryabykh V.P., Koloskova E.M., Karkischenko V.N. Sozdanie gumanizirovannykh myshey dlya farmakotoksikologicheskikh issledovaniy (uspekhi, neudachi i perspektivy) [Creation of humanized mice for pharmacotoxicological studies (successes, failures and prospects)]. *Biomedicine*. 2014;3:4–22. (In Russian)].
 9. Клесов Р.А., Каркищенко В.Н., Степанова О.И., Ревякин А.О. Оптимизация биомодели сахарного диабета I типа. *Биомедицина*. 2014;4:25–30. [Klesov R.A., Karkischenko V.N., Stepanova O.I., Revyakin A.O. Optimizatsiya biomodeli sakharnogo diabeta I tipa [Optimization of biomodel type 1 diabetes]. *Biomedicine*. 2014;4:25–30. (In Russian)].
 10. Коморбидная патология в клинической практике. Клинический реком. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2017;16(6):5–56. [Komorbidnaja patologija v klinicheskoy praktike. Klin. rekom. [Comorbid pathology in clinical practice. Clinical recommendations]. *Kardiovaskuljarnaja terapija i profilaktika [Cardiovascular Therapy and Prevention]*. 2017;16(6):5–56. (In Russian)].
 11. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина. *Вопр. мед. химии*. 1990;36(2):88–91. [Kostjuk V.A., Potapovich A.I., Kovaleva Zh.V. Prostoj i chuvstvitel'nyj metod opredelenija aktivnosti superoksidismutazy, osnovannyj na reakcii okislenija kvvertsetina [The simple and sensitive method of determination of activity superoxide dismutases based on quercetin oxidation reaction]. *Vopr. med. himii [Questions of medical chemistry]*. 1990;36(2):88–91. (In Russian)].
 12. Лещенко Д.В., Костюк Н.В., Белякова М.Б., Егорова Е.Н., Миняев М.В. Лептиндефицитные и лептинрезистентные линии грызунов как модели метаболического синдрома. *Современные проблемы науки и образования*. 2015;4:9. [Leshhenko D.V., Kostyuk N.V., Belyakova M.B., Egorova E.N., Minyaev M.V. Leptindefitsitnye i leptinrezistentnye linii gryzunov kak modeli metabolicheskogo sindroma [Leptin deficiency and leptin resistance lines of rodents as models of a metabolic syndrome]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya [Modern problems of science and education]*. 2015;4:9. (In Russian)].
 13. *Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен)* / Под ред. М. Прохоровой. Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. 272 с. [Metody biohichimicheskikh issledovaniy (lipidnyj i jenergeticheskij obmen) [Methods of biochemical researches (lipidic and power exchange)]. Ed. by M. Prokhorova. Leningrad: LGU Publ., 1982. 272 p. (In Russian)].
 14. Наумова Л.А., Осипова О.Н. Коморбидность: механизмы патогенеза, клиническое значение. *Современные проблемы науки и образования*. 2016;5. [Naumova L.A., Osipova O.N. Komorbidnost': mehanizmy patogeneza, klinicheskoe znachenie [Comorbidity: pathogenesis mechanisms, clinical value]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya [Modern problems of science and education]*. 2016;5. (In Russian)].
 15. Новиков В.С., Сороко С.И., Шустов Е.Б. *Дезадаптационные состояния человека при экстремальных воздействиях и их коррекция*. СПб.: Политехника-принт, 2018. 548 с. [Novikov V.S., Soroko S.I., Shustov E.B. *Dezadaptatsionnye sostojaniya cheloveka pri jekstremal'nyh vozdeystvijah i ih korrektsija [Disadaptation conditions of the person at extreme*

- influences and their correction*]. Saint Petersburg: Politekhnik-print Publ., 2018. 548 p. (In Russian)].
16. Оковитый С.В., Шустов Е.Б., Белых Н.В., Кириллова Н.В., Спасенкова О.М., Иванов А.Г., и др. Моделирование неалкогольного стеатоза печени: особенности метаболических изменений в организме лабораторных животных. *Биомедицина*. 2018;4:29–43. [Okovityj S.V., Shustov E.B., Belyh N.V., Kirillova N.V., Spasenkova O.M., Ivanov A.G., et al. Modelirovanie nealkogol'nogo steatoza pecheni: osobennosti metabolicheskikh izmenenij v organizme laboratornyh zhivotnyh [Modeling of not alcoholic liver steatosis: features of metabolic changes in an organism of laboratory animals]. *Biomedicine*. 2018;4:29–43. (In Russian)].
 17. Реброва О.Ю. *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica*. М.: МедиаСфера, 2002. 70 с. [Rebrova O.Yu. *Statisticheskij analiz medicinskih dannyh. Primenenie paketa prikladnyh programm Statistica [Statistical analysis of medical data. Application of an application program package Statistica]*. Moscow: MediaSfera, 2002. 70 p. (In Russian)].
 18. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях* / Под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль-К, 2010. 358 с. [*Rukovodstvo po laboratornym zhivotnym i al'ternativnym modeljam v biomeditsinskih issledovanijah [The guide to laboratory animals and alternative models in biomedical researches]*. Ed. by N.N. Karkischenko, S.V. Grachev. Moscow: Profil'-K, 2010. 358 p. (In Russian)].
 19. Титович И.А., Болотова В.Ц. Экспериментальное изучение антигипоксической активности нового производного аминокетанола. *Биомедицина*. 2016;2:77–83. [Titovich I.A., Bolotova V.Ts. Eksperimental'noe izuchenie antigipoksicheskoj aktivnosti novogo proizvodnogo aminoetanol'a [Experimental studying of antihypoxic activity of new derivative aminoethanol]. *Biomedicine*. 2016;2:77–83. (In Russian)].
 20. Шустов Е.Б., Каркищенко Н.Н., Дуля М.С., Семенов Х.Х., Оковитый С.В., Радько С.В. Экспрессия гипоксия-индуцибельного фактора HIF-1 α как критерий развития гипоксии тканей. *Биомедицина*. 2015;4:4–15. [Shustov E.B., Karkischenko N.N., Dulja M.S., Semenov Kh.Kh., Okovityj S.V., Rad'ko S.V. Ekspressija gipoksija-inducibel'nogo faktora HIF-1 α kak kriterij razvitiya gipoksii tkanej [The expression of hypoxia-inducible factor HIF-1 α as a criterion for the development of tissue hypoxia]. *Biomedicine*. 2015;4:4–15. (In Russian)].
 21. Aronow W.S., Ahn C., Mercado A.D., Epstein S. Prevalence of coronary artery disease, complex ventricular arrhythmias, and silent myocardial ischemia and incidence of new coronary events in older persons with chronic renal insufficiency and with normal renal function. *Am. J. Card.*, 2000;86(10):1142–1143.
 22. Bruce S.G., Riediger N.D., Zacharias J.M., Young T.K. Obesity and obesity-related comorbidities in a Canadian First Nation population. *Prev. Chronic Dis*. 2011;8(1):A03.
 23. Caughey G.E., Ramsay E.N., Vitry A.I., Gilbert A.L., Luszcz M.A., Ryan P., et al. Comorbid chronic diseases, discordant impact on mortality in older people: a 14-year longitudinal population study. *J. Epidemiol. Community Health*. 2010;64(12):1036–1042.
 24. de Groot V., Beckerman H., Lankhorst G.J., Bouter L.M. How to measure comorbidity: a critical review of available methods. *J. Clin. Epidemiol*. 2003;56(3):221–229.
 25. Feinstein A.R. Pre-therapeutic classification of comorbidity in chronic disease. *J. Chronic Disease*. 1970;23(7):455–468.
 26. Gijzen R., Hoeymans N., Schellevis F.G., Ruwaard D., Satariano W.A. Causes and consequences of comorbidity: a review. *J. Clin. Epidemiol*. 2001;54(7):661–674.
 27. Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta*. 1991;196(2–3):143–152.
 28. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*. 1990;186:464–478.
 29. Smith C.D., Carney J.M., Starke-Reed P.E. Excess brain protein oxidation and enzyme dysfunction in normal aging and in Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991;88(23):10540–105403.
 30. Taylor V.M., Anderson G.M., McNeney B., Diehr P., Lavis J.N., Deyo R.A., et al. Hospitalizations for back and neck problems: a comparison between the Province of Ontario and Washington State. *Health Serv. Res*. 1998;33(4):929–945.
 31. Xu B.L., Wang R., Ma L.N. Effects of caloric intake on learning and memory function in juvenile C57BL/6J mice. *Biomed. Res. Int*. 2015:759–803.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Оковитый Сергей Владимирович, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: okovityy@pharminnotech.com

Петрова Наталья Владимировна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;
e-mail: m-sklad@yandex.ru

Шустов Евгений Борисович*, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России; ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»;
e-mail: shustov-msk@mail.ru

Белых Мария Александровна, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: belych.mariya@pharminnotech.com

Кириллова Надежда Васильевна, д.б.н., проф., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: nadezhda.kirillova@pharminnotech.com

Спасенкова Ольга Михайловна, к.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: olga.spasenkova@pharminnotech.com

Иванов Алексей Геннадьевич, к.х.н., доц., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: alexey.ivanov@pharminnotech.com

Караваяева Анна Владимировна, к.б.н., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: anna.karavaeva@pharminnotech.com

Sergey V. Okovityy, Dr. Sci. (Med.), Prof., Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: okovityy@pharminnotech.com

Nataliya V. Petrova, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: m-sklad@yandex.ru

Evgeniy B. Shustov*, Dr. Sci. (Med.), Prof., Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; Institute of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: shustov-msk@mail.ru

Mariya A. Belykh, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: belych.mariya@pharminnotech.com

Nadezhda V. Kirillova, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: nadezhda.kirillova@pharminnotech.com

Ol'ga M. Spasenkova, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: olga.spasenkova@pharminnotech.com

Aleksey G. Ivanov, Cand. Sci. (Chem.), Assoc. Prof., Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: alexey.ivanov@pharminnotech.com

Anna V. Karavaeva, Cand. Sci. (Biol.), Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: anna.karavaeva@pharminnotech.com

Ивкин Дмитрий Юрьевич, к.б.н., доц.,
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный
химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: dmitry.ivkin@pharminnotech.com

Фокин Юрий Владимирович, к.б.н., ФГБУН
«Научный центр биомедицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства
России»;
e-mail: fokin@scbmt.ru

Матвеенко Елена Леонидовна, к.э.н., доц.,
ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства
России»;
e-mail: matveyenkoel@mail.ru

Алимкина Оксана Владимировна, ФГБУН
«Научный центр биомедицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства
России»;
e-mail: alimkina@scbmt.ru

Dmitriy Yu. Ivkin, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof.,
Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical
University of the Ministry of Health of the Russian
Federation;
e-mail: dmitry.ivkin@pharminnotech.com

Yuriy V. Fokin, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center
of Biomedical Technologies of the Federal Medical
and Biological Agency of Russia;
e-mail: fokin@scbmt.ru

Elena L. Matveyenko, Cand. Sci. (Econ.), Assoc.
Prof., Scientific Center of Biomedical Technologies
of the Federal Medical and Biological Agency of
Russia;
e-mail: matveyenkoel@mail.ru

Oksana V. Alimkina, Scientific Center of
Biomedical Technologies of the Federal Medical
and Biological Agency of Russia;
e-mail: alimkina@scbmt.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author