

УДК 615.015:616-001.8

## ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО И ГИПОКСИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ОРГАНИЗМА К ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

Левченкова О.С., Новиков В.Е., Ботулева Н.Н.

ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия»  
Министерства здравоохранения РФ, Смоленск, e-mail: nau@sgma.info

На моделях острой гипоксии с гиперкапнией и острой гипобарической гипоксии изучено влияние фармакологического (амтизол 25 мг/кг) и гипоксического (умеренная гипобарическая гипоксия) пре кондиционирования на продолжительность жизни мышей в разные периоды адаптации к гипоксии. Установлено, что комбинированное пре кондиционирование (амтизол + умеренная гипоксия) увеличивает устойчивость организма животных к острой гипоксии в ранний (через 1 час) и поздний (через 48 час) периоды пре кондиционирования более эффективно, чем раздельное пре кондиционирование умеренной гипоксией или амтизолом.

**Ключевые слова:** амтизол, пре кондиционирование, острая гипоксия с гиперкапнией, острой гипобарической гипоксией

## INFLUENCE OF PHARMACOLOGICAL AND HYPOXIC PRECONDITIONING ON ORGANISM TOLERANCE TO ACUTE HYPOXIA

Novikov V.E., Levchenkova O.S., Botuleva N.N.

Smolensk State Medical Academy, Smolensk, e-mail: nau@sgma.info

Influence of pharmacological (amthizole 25 mg/kg) and hypoxic (moderate hypobaric hypoxia) preconditioning on lifespan of mice in different periods of adaptation to hypoxia were studied with acute hypercapnic and hypobaric hypoxia model. It was found that the combined preconditioning (amthizole+moderate hypoxia) led to higher increase of animal tolerance to acute hypoxia in the early (in 1 hour) and the late (in 48 hours) periods of preconditioning only by moderate hypoxia or amthizole.

**Keywords:** amthizole, preconditioning, acute hypercapnic hypoxia, acute hypobaric hypoxia

Повышение толерантности организма к воздействию гипоксии возможно путем использования феномена пре кондиционирования. Под ним понимают метаболическую адаптацию организма или отдельных его органов к гипоксии и/или ишемии, которая развивается после повторяющихся кратковременных сублетальных по интенсивности эпизодов снижения доставки кислорода к тканям. В настоящее время показана эффективность гипоксического пре кондиционирования. Пре кондиционирование имеет два периода: ранний (классический) и поздний. Ранний период защищает организм от повреждения в интервале от нескольких минут до 2 ч. Поздний период развивается приблизительно через 24 ч после начала действия причинного фактора и длится около 48-72 часов [1].

Поиск оптимального способа пре кондиционирования постоянно продолжается. Большое внимание уделяется фармакологическому пре кондиционированию, для развития которого могут быть использованы соединения из разных фармакологических групп [9, 10]. Среди прочих рассматривают способность веществ с антигипоксическим действием запускать развитие пре кондиционирования [5, 6]. Для фармакологического пре кондиционирования интересен отсроченный (поздний) период, при котором повыше-

ние резистентности органов и тканей к гипоксии отмечается через 24–48 часов после введения лекарственного вещества [4].

Высокую эффективность при различных формах острой гипоксии проявляет амтизол, который является эталонным антигипоксантом и используется в качестве препарата сравнения при изучении новых веществ с антигипоксической активностью [2]. Эффективность амтизола в острый период гипоксии хорошо известна, в частности, на моделях острой гипобарической гипоксии (ОГБГ) и острой гипоксии с гиперкапнией (ОГсГк).

*Цель данного исследования* – изучение влияния амтизола и умеренной гипобарической гипоксии при раздельном и комбинированном применении на устойчивость организма животных к острой гипоксии в ранний и поздний периоды пре кондиционирования.

### Материалы и методы исследования

Опыты проведены на 126 лабораторных мышах-самцах массой 20–26 г, содержащихся в обычных условиях вивария. Экспериментальные животные были равномерно разделены на 4 группы: одна контрольная (интактные животные) и три опытных. Опытные группы мышей подвергались одному из вариантов пре кондиционирования: фармакологическому, гипоксическому либо комбинированному (фармакологическое + гипоксическое). Фармаколо-

гическое пре кондиционирование включало введение раствора амтизола в дозе 25 мг/кг внутр ибрюшинно трехкратно (1 раз в день с интервалом в 1 день). Гипоксическое пре кондиционирование моделировали у животных, подвергая их трижды (1 раз в день с интервалом в 1 день) умеренной гипобарической гипоксии путем разрежения воздуха до давления, соответствующего высоте 5000 метров, время экспозиции – 60 минут. При комбинированном пре кондиционировании в первый день эксперимента лабораторным животным вводили раствор амтизола в дозе 25 мг/кг, на следующий день моделировали у этих же животных умеренную гипобарическую гипоксию, разрежая воздух до давления, соответствующего высоте 5000 метров, время экспозиции – 60 минут. В последующие дни повторяли введение амтизола и моделирование гипоксии, таким образом, чередуя фармакологическое (1-ый, 3-ий и 5-ый дни) и гипоксическое (2-ой, 4-ый и 6-ой дни) пре кондиционирование.

Через 1 час (ранний период пре кондиционирования) и 48 часов (поздний период пре кондиционирования) после последнего предъявления пре кондиционирующего фактора опытных животных подвергали острой гипобарической гипоксии (ОГБГ) либо острой гипоксии с гиперкапнией (ОГсГк). ОГсГк моделировали путем помещения животных в стеклянные штанглазы с притертой крышкой объемом 250 мл. Скорость потребления кислорода мышами во вдыхаемом воздухе в замкнутом пространстве регистрировали по изменению его процентной концентрации с помощью кислородного датчика ДК-16 фирмы «ИНСОВТ» (Россия), смонтированного в крышку штанглаза [7]. Тяжелую ОГБГ вызывали путем «поднятия» животных на «высоту» 11 000 м со скоростью 50 м/сек и экспозицией на «высоте» до полного прекращения дыхания у животных (по последнему агональному вдоху). Оценивали продолжительность жизни животных в условиях гипоксии в минутах.

Полученные данные обрабатывали статистически с помощью непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни для независимых выборок. Данные считались достоверными при  $p < 0.05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Продолжительность жизни мышей контрольной группы в условиях тяжелой ОГБГ (11000 м) составляла 5,41–5,71 минуты. После гипоксического пре кондиционирования продолжительность жизни животных несколько увеличивалась как в ранний период адаптации (через 1 час после моделирования ОГБГ – на 34%), так и в поздний период адаптации (через 48 часов – на 25%). Примерно такие же результаты были получены у животных, которых подвергали пре кондиционированию амтизолом (увеличение продолжительности жизни в ранний и поздний период пре кондиционирования на 46% и 24% соответственно). Однако в обоих случаях отдельного пре кондиционирования изменения продолжительности жизни мышей не были достоверными.

В опытной группе животных, которой применяли комбинированное пре кондиционирование (введение амтизола чередовали с умеренной гипоксией), были выявлены значимые изменения в сравнении с контрольной группой. Так, животные, которые подвергались тяжелой ОГБГ через 1 час после прекращения комбинированного пре кондиционирования, жили 9,03 минуты, что на 67% дольше по сравнению с контрольной группой. Средняя продолжительность жизни мышей при отсроченной (через 48 часов) тяжелой ОГБГ составила 9,9 минуты и была на 73% достоверно выше относительно контроля и на 39% выше в сравнении с группами животных, которых подвергали индивидуально пре кондиционированию умеренной гипоксией либо амтизолом (таблица).

#### Влияние фармакологического и гипоксического пре кондиционирования на продолжительность жизни мышей в условиях острой гипоксии

Группы животных (n = 8)	Острая гипобарическая гипоксия		Острая гипоксия с гиперкапнией	
	через 1 час	через 48 часов	через 1 час	через 48 часов
Время жизни в минутах (M ± m)				
Интактная (контроль)	5,41 ± 1,04	5,71 ± 1,34	26,75 ± 3,12	31,50 ± 6,18
Умеренная гипоксия	7,27 ± 1,44	7,13 ± 3,32	33,12 ± 2,80*	30,12 ± 3,35
Амтизол 25 мг/кг	7,93 ± 2,70	7,10 ± 1,50	43,45 ± 2,85*#	33,25 ± 3,76
Амтизол 25 мг/кг + Умеренная гипоксия	9,03 ± 1,13*	9,90 ± 1,45*	52,37 ± 5,37*##	59,12 ± 7,34*#

Примечание: Достоверность различий ( $P < 0,05$ ): \* – с контролем, # – с группой «умеренная гипоксия», + – с «группой амтизол».

На модели ОГсГк в гермообъеме продолжительность жизни интактных мышей составила 26,75–31,5 минуты. В условиях отдельного пре кондиционирования умеренной гипоксией или амтизолом продолжительность жизни животных на этой модели гипоксии достоверно увеличивалась только в ранний период адаптации (через 1 час)

ральной гипоксией или амтизолом продолжительность жизни животных на этой модели гипоксии достоверно увеличивалась только в ранний период адаптации (через 1 час)

соответственно на 24% и 62%. Обращает на себя внимание, что прекондиционирование амтизолом более эффективно повышает резистентность мышей к ОГсГк, чем гипоксическое прекондиционирование. Продолжительность жизни мышей, получавших амтизол, была на 31% достоверно выше, чем в группе с гипоксическим прекондиционированием. Такой эффект амтизола в ранний период адаптации к гипоксии может быть обусловлен разными причинами, в том числе, влиянием на основной обмен животных, биоэнергетические процессы и регуляторные факторы в клетках [3, 7, 8].

При комбинированном прекондиционировании продолжительность жизни мышей в условиях ОГсГк существенно увеличилась как по отношению к контролю, так и в сравнении с группами с отдельным прекондиционированием. Так, в ранний период комбинированного прекондиционирования (через 1 час) продолжительность жизни равнялась 52,37 минутам, что на 96% дольше, чем в контроле. В поздний период прекондиционирования (через 48 часов) продолжительность жизни мышей составила в среднем 59,12 минут, что было на 88% выше в сравнении с соответствующей контрольной группой.

На модели ОГсГк в динамике анализировали скорость потребления кислорода мышами в контрольной группе и опытной группе через 48 час после комбинированного прекондиционирования. Было установлено, что гибель животных опытной группы наблюдалась при достоверно более низкой концентрации кислорода в сравнении с контролем. При этом снижение процентного содержания кислорода в обеих группах происходило приблизительно одинаково через равные промежутки времени. Так, в первые 30 минут нахождения животных контрольной группы в гермообъеме концентрация кислорода снижалась с 21% до 6,4%. Гибель животных этой группы наступала через  $31,5 \pm 6,18$  минут при содержании кислорода 6,2%. В опытной группе в первые 30 минут нахождения животных в гермообъеме концентрация кислорода снижалась с 21% до 6,6%. Однако гибель животных этой группы наступала через  $59,12 \pm 7,34$  минут при концентрации кислорода 3,4%.

## Выводы

1. Сочетанное чередующееся применение амтизола в дозе 25 мг/кг и умеренной гипоксии в течение 6 дней повышает устойчивость экспериментальных животных к острой гипобарической гипоксии и острой гипоксии с гиперкапнией как в ранний (через 1 час), так и в поздний (через 48 час) периоды адаптации к гипоксии.

2. Использование амтизола и умеренной гипобарической гипоксии в режиме комбинированного прекондиционирования увеличивает продолжительность жизни животных в условиях острой гипоксии более эффективно по сравнению с отдельным прекондиционированием умеренной гипоксией или амтизолом.

## Список литературы

1. Гипоксическое прекондиционирование, как новый подход к профилактике ишемических и реперфузионных повреждений головного мозга и сердца / Л.Н. Маслов, Ю.Б. Лишманов, Т.В. Емельянова и др. // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2011. – Т. 17, № 3. – С. 27–36.
2. Левченкова О.С., Новиков В.Е., Пожилова Е.В. Фармакодинамика и клиническое применение антигипоксантов // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2012. – Т. 10, № 3. – С. 3–12.
3. Левченкова О.С., Новиков В.Е. Индукторы регуляторного фактора адаптации к гипоксии // *Российский биологический вестник им. акад. И.П. Павлова*. – 2014. – № 2. – С. 134–144.
4. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Влияние амтизола на резистентность организма к острой гипоксии в поздний период прекондиционирования // *Научные ведомости БелГУ*. – 2012. – Вып. 20. – № 22 (141). – С. 130–134.
5. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2013. – Т. 76, № 5. – С. 37–47.
6. Новиков В.Е., Лосенкова С.О. Фармакология производных 3-оксипиридина // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 2–14.
7. Новиков В.Е., Понамарева Н.С., Шабанов П.Д. Аминотиоловые антигипоксанты при травматическом отеке мозга. – Смоленск-СПб: Элби-СПб, 2008. – 176 с.
8. Ураков А.Л. Рецепт на температуру. – Ижевск: Удмуртия, 1988. – 80 с.
9. Pharmacological preconditioning with erythropoietin attenuates the organ injury and dysfunction induced in a rat model of hemorrhagic shock / K. Nandra, M. Collino, M. Rogazzo et al. // *Dis. Model. Mech.* – 2013. – Vol. 6, № 3. – P. 701–709.
10. Wen J.Y., Chen Z.W. Protective effect of pharmacological preconditioning of total flavones of abelmoschonihot on cerebral ischemic reperfusion injury in rats // *The American Journal of Chinese Medicine*. – 2007. – Vol. 35, № 4. – P. 653–661.