

УДК 612.014.464:615.015.16:615.23:597

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ, АТМОСФЕРНОГО ДАВЛЕНИЯ, АНТИГИПОКСАНТОВ И ХИМИЧЕСКОГО «АККУМУЛЯТОРА КИСЛОРОДА» НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ РЫБ В ВОДЕ БЕЗ ДОСТУПА ВОЗДУХА

^{1,2,3}Ураков А.Л., ²Уракова Н.А., ²Чернова Л.В.

¹Министерство образования и науки Российской Федерации, Москва, Россия;

²ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» МЗ РФ, Ижевск, Россия;

³Институт механики Уральского отделения РАН, Ижевск, Россия, e-mail: urakoval@live.ru

Показано, что современные антигипоксанты не продляют период сохранения рыб живыми в воде при отсутствии поступления в нее атмосферного воздуха. Обнаружено, что охлаждение воды с 26 до 16°C или введение в воду раствора 6% перекиси водорода в дозе 0,2 мл/кг рыбы удлиняет период сохранения рыбок живыми в условиях гипоксии в 2,0 – 2,3 раза. Кроме этого установлено, что сила протекторного действия перекиси водорода и гипотермии прямо пропорциональна их дозе. Показано, что чрезмерное увеличение дозы (концентрации) перекиси водорода в воде после истощения у рыб резервов адаптации к гипоксии убивает их. Кроме этого, обнаружено, что своевременное многократное введение перекиси водорода «в оживляющей дозе» в воду с рыбами, переживающими гипоксию, многократно удлиняет жизнь рыбок в воде без поступления в нее атмосферного воздуха.

Ключевые слова: температура тела, гипоксия, антигипоксанты, кислород, перекись водорода, рыбы

THE INFLUENCE OF TEMPERATURE, ATMOSPHERIC PRESSURE, ANTIHYPOXANT AND CHEMICAL "BATTERY OXYGEN" ON THE SUSTAINABILITY OF FISH IN THE WATER WITHOUT AIR

^{1,2,3}Urakov A.L., ²Urakova N.A., ²Chernova L.V.

¹The Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Moscow, Russia;

²Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russia;

³Institute of Mechanics Ural Branch of RAS, Izhevsk, Russia, e-mail: urakoval@live.ru

It is shown that modern antihypoxants not prolong the period of preservation of fish living in water in the absence of receipt in atmospheric air. Discovered that the cooling water from 26 to 16°C or the introduction into the water solution 6% peroxide of hydrogen in the dose of 0.2 ml/kg of fish prolongs the period of preservation of fish living in hypoxia in 2.0 - 2.3 times. Besides it is established, that the power of the protective action of hydrogen peroxide and hypothermia is directly proportional to the dose. It is shown that the excessive increase the dose (concentration) of hydrogen peroxide in water after the exhaustion of fish reserves of adaptation to hypoxia kills them. In addition, we discovered that timely repeated introduction of hydrogen peroxide in quickening the dose in the water with fish experiencing hypoxia, greatly prolongs the life of the fish in the water without entering her with atmospheric air.

Keywords: body temperature, hypoxia, antihypoxants, oxygen, hydrogen peroxide, fish

Введение

Гипоксия коры головного мозга остается непосредственной причиной биологической смерти большинства людей и теплокровных животных нашей планеты независимо от состояния их здоровья и возраста [3,6,13,14,15,16]. Для борьбы с гипоксическим повреждением головного мозга в критических состояниях используют кислород, а при его отсутствии – лекарственные средства, которые именуются «антигипоксанты» (средства «против гипоксии») [7,8,10]. Однако сегодня среди этих лекарственных средств отсутствуют химические заменители кислорода, а также химические «аккумуляторы» или «донатор» кислорода. Все лекарственные средства, входящие в группу современных антигипоксантов – это соли, лишенные кислорода, а также свойств

окислителей. Поэтому их протекторное действие при гипоксии трудно объяснить на основе классических законов химии, биохимии, биофизики и биологии [10]. Тем не менее, способность этих средств защищать головной мозг животных и человека от повреждения при гипоксии не опровергается. Более того, механизм протекторного действия антигипоксантов продолжает активно изучаться различными исследователями.

К антигипоксантам в настоящее время относят такие лекарственные средства, как дибунол, оксибутират натрия, олифен, эпофен, эмоксипин, мексидол, мафусол и реамберин [10]. Считается, что механизм действия этих лекарств заключается в их способности эффективно защищать весь организм от гипоксического повреждения. Однако такое понимание механизма про-

текторного действия перечисленных лекарств не привело к их применению в роли консервантов. Действительно, современные антигипоксанты не применяются для сохранения жизнеспособности изолированных органов и тканей при их консервации, несмотря на то, что консервация органов и тканей осуществляется в условиях недостатка кислорода, то есть в условиях гипоксии. Сомнение в способности перечисленных антигипоксантов сохранять жизнь биологических объектов в условиях гипоксии усиливается еще и потому, что, с одной стороны, гипоксия – это недостаток кислорода, а с другой стороны, современные антигипоксанты – это не кислород и не его заменители, а соли, лишенные кислорода. Тем не менее, известен следующий парадокс: эффективная защита тканей от ишемического и гипоксического повреждения возможна без добавления к ним кислорода, в частности, с помощью охлаждения биологических объектов [2,4,9].

Анализ истории изучения механизма действия антигипоксантов показывают, что приведенные выше противоречия могли оставаться неразрешенными потому, что особенности гипоксических повреждений органов и тканей длительное время изучались в опытах на теплокровных животных. Дело в том, что особенностью функционирования организма теплокровных животных является стабильность их температуры тела, которая остается неизменной независимо от температуры внешней среды. Более того, теплокровные животные борются с любым насильственным изменением температуры их тела, реагируя на попытку искусственного изменения температуры их тела как на повреждающий фактор. Совершенно иначе ведут себя холоднокровные животные: они допускают «беспрепятственное» искусственное изменение температуры своего тела. Поэтому использование холоднокровных животных может дать новые возможности в изучении особенностей развития гипоксии и устойчивости организмов к ней [11,12]. Тем более, что в вид биологического объекта и температура тканей имеет огромное значение для изучения механизма действия лекарств [1,3,4,5,9,10].

Цель исследования – изучение возможностей термо-химического обеспечения жизнедеятельности рыб в воде без доступа атмосферного воздуха и без наличия в воде растворенного кислорода.

Материалы и методы исследования

Опыты с острой и потенциально смертельной гипоксией проведены на 300 взрослых здоровых аквариумных рыбах обоего пола породы голубые не-

оны (150 рыбок) массой по 290 – 310 мг и гуппи (150 рыбок) массой по 300-320 мг. Моделирование острой гипоксии достигалось путем помещения каждой рыбки в 5 или в 2,5 мл пресной питьевой воды, находящейся в герметичной емкости (внутри шприца) при определенной температуре в диапазоне 16 - 26°C, отличающейся своей температурой на 1°C от серии к серии. Каждая рыбка находилась в воде внутри отдельного прозрачного пластикового инъекционного шприца при стабильной температуре. Регистрировалась динамика двигательной активности рыб и определялась продолжительность жизни рыбок в условиях прекращения поступления атмосферного воздуха в воду, в которой находились рыбки. Помимо этого регистрировалась динамика изменения цвета плавников, момент наступления дефекации у рыб, а также изменение цвета и прозрачности воды.

Антигипоксанты (оксидуриг натрия, олифен, эпофен, эмоксипин, мексидол, мафусол и реамберин) вводились в воду в определенных концентрациях перед введением рыбок. Концентрация каждого лекарственного средства в воде, в которой рыбка переживала гипоксию, создавалась путем растворения средней терапевтической дозы избранного препарата в 5 л воды. Перекись водорода вводилась в воду с рыбками в виде раствора 6% перекиси водорода в диапазоне доз от 0,05 до 0,3 мл/кг рыбы.

Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью программы «Statistica for Windows 5.0». Достоверность отличий определяли с использованием t- критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при $P < 0,05$. Данные представлено как $M \pm m$ (среднее \pm стандартная ошибка среднего) [16].

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты проведенных экспериментов показали, что прекращение доступа атмосферного воздуха в воду с рыбами неминуемо ведет к их гибели. Показано, что продолжительность жизни рыб в указанных условиях зависит от породы рыб и может быть продлена без введения в воду кислорода. В частности, рыбки породы голубые неоны обладают меньшей устойчивостью к острой гипоксии, чем рыбки породы гуппи, а понижение температуры воды продляет период сохранения рыб живыми при прекращении поступления воздуха в воду. Кроме этого, продолжительность жизни рыб в замкнутом объеме воды тем выше, чем больше величина объема воды и величина атмосферного давления. В самом общем виде продолжительность жизни рыбок в воде после прекращения доступа в нее воздуха оказалась тем дольше, чем была ниже температура воды, и чем выше была величина атмосферного давления в атмосферном воздухе при взятии воды для проведения эксперимента. Так, в серии опытов, проведенных в дни, когда атмосферное давление воздуха находилось в пределах 755 - 765 мм ртутного столба, смерть рыбок породы голубые не-

оны и гуппи наступала после прекращения доступа воздуха в воду объемом 5 мл при температуре воды 26°C соответственно через $25,3 \pm 1,31$ и $27,4 \pm 1,32$ минут ($P \leq 0,05$, $n = 5$), а при температуре воды 16°C - через $65,4 \pm 2,60$ и $67,6 \pm 2,68$ ($P \leq 0,05$, $n = 5$) минут (соответственно). Иными словами, охлаждение воды с 26 до 16°C удлинит продолжительность жизни рыб в 5 мл воды без доступа воздуха в 2,2 – 2,3 раза независимо от температуры воды в диапазоне 16 - 26°C.

Аналогичные же данные были получены при помещении рыбок в меньший объем воды, а именно – в 2,5 мл пресной воды. Показано, что после герметизации емкости с рыбками, находящимися в 2,5 мл воды при температуре 26°C, рыбки породы голубые неоны и гуппи оставались живыми соответственно $12,5 \pm 0,64$ и $13,7 \pm 0,71$ минут ($P \leq 0,05$, $n = 5$), а при температуре 16°C – соответственно $32,1 \pm 1,20$ и $32,5 \pm 1,85$ минут ($P \leq 0,05$, $n = 5$).

Следовательно, длительность периода выживания рыбками периода прекращения поступления воздуха в воду прямо пропорциональна величине объема воды, поскольку продолжительность жизни рыб при этом в объеме воды 2,5 мл была в 2 раза меньше продолжительности их жизни в объеме воды 5 мл.

В следующей серии опытов была исследована продолжительность жизни рыбок в 5 мл воды при температуре 16°C без доступа в нее воздуха в дни, когда атмосферное давление воздуха было ниже или выше нормы на 10 мм ртутного столба. Показано, что в дни с атмосферным давлением в пределах 770 – 780 мм ртутного столба продолжительность жизни рыбок пород голубые неоны и гуппи была соответственно $67,3 \pm 2,57$ и $69,5 \pm 2,62$ минут, а в дни, когда атмосферное давление находилось в пределах 740 – 750 мм ртутного столба, продолжительность жизни рыбок была соответственно $64,3 \pm 2,50$ и $65,8 \pm 2,61$ ($P \leq 0,05$, $n = 5$) минут. Указанные результаты свидетельствуют о том, что забор воды для эксперимента в дни с повышенным атмосферным давлением ведет к статистически достоверному удлинению срока жизни рыбок в воде после прекращения доступа в нее воздуха.

Параллельно с этим нами была изучена динамика двигательной активности рыбок в воде после прекращения доступа в нее воздуха. Показано, что сразу после прекращения поступления воздуха в воду рыбки становятся практически неподвижными. Так, при нормальных значениях атмосферного давления (755 - 765 мм рт. ст.) и при температуре воды 26°C рыбки породы голубые

неоны и гуппи остаются в неподвижном состоянии соответственно $21,90 \pm 0,91$ и $27,2 \pm 0,95$ минут ($P \leq 0,05$, $n = 5$), а при температуре воды 16°C сохраняют неподвижное состояние соответственно $49,7 \pm 2,10$ и $59,83 \pm 2,22$ минут ($P \leq 0,05$, $n = 5$). Затем у рыбок появляются активные движения жаберных дуг, плавников и туловища. При этом рыбки непрерывно открывают рот и начинают усиленно пропускать воду через открытый рот и открытые жабры. Через 5 – 10 секунд после начала указанного периода двигательной активности рыбки начинают активно и беспорядочно перемещаться внутри емкости. При этом рыбы эпизодически испражняются, поэтому вода, в которой они плавают, загрязняется каловыми массами.

Проведенный нами анализ полученных результатов привел нас к мысли о том, что значительную часть периода острой гипоксии рыбки находятся в неподвижном состоянии, что, по всей вероятности, представляет собой приспособительную реакцию, направленную на экономное расходование кислорода. Когда же, несмотря на эту приспособительную реакцию, кислород почти полностью исчезает из воды, рыбки вынуждены идти на риск. Поэтому возникающая в этот период двигательная активность рыб – это, по всей вероятности, их судорожный поиск «лучшего» места внутри шприца (места, в котором вода может содержать больше кислорода). Длится этот период в среднем 30 – 100 секунд. После этого рыбки замирают на одном месте и около 60 секунд продолжают производить очень редкие дыхательные движения ртом и жаберными дугами, а также единичные подергивания плавниками, после чего окончательно становятся неподвижными и погибают. При этом одна половина рыбок переворачивается кверху брюхом и всплывает кверху, другая остается в положении вниз брюхом и опускается на дно. Перенос их тел в аэрируемую пресную воду не приводит к оживлению рыбок.

Описанные выше значения продолжительности жизни рыбок в герметичной емкости в 5 мл воды были приняты нами за естественную устойчивость рыбок к гипоксии, то есть за «контрольные данные». Такие данные совершенно необходимы для сравнения с ними результатов, полученных при введении антигипоксантов и иных биологически активных веществ. Поскольку рыбы активно пропускают воду через жаберные щели с целью обмена газов, предполагается, что испытуемые вещества (по крайней мере, газы) могут попасть в организм рыбок из воды. Поэтому исследуемые

средства можно вводить прямо в воду, в которой плавают рыбки.

Для выяснения возможности продления жизни рыбок в воде при отсутствии в ней растворенного воздуха и/или кислорода проведены опыты с перекисью водорода. Дело в том, что перекись водорода является, по сути дела, химическим аккумулятором кислорода, из которого может образовываться с помощью каталазы молекулярный кислород. В частности, 100 мл раствора 6% перекиси водорода может выделить 1,97 л O₂ (молекулярного кислорода) массой 2,816 г. Поэтому дополнение воды терапевтической дозой перекиси водорода теоретически должно отодвинуть момент наступления смерти рыб в воде при отсутствии поступления в нее атмосферного воздуха. Обнаружение такого результата будет означать, что предложенная модель пригодна для поиска веществ, обладающих антигипоксическим действием.

Химические расчеты показали, что при введении в пресную воду с рыбами перекиси водорода в разовой дозе 0,2 мл/кг рыбы уровень растворенного в воде кислорода останется неизменным, но в воде появится связанный кислород, количество которого позволит, в определенных условиях, нормализовать содержание кислорода в воде при его отсутствии. Это дает надежду на увеличение в 2 раза продолжительности жизни рыб в этой воде после прекращения поступления в нее атмосферного воздуха, если рыбы могут перекись водорода. Результаты проведенных нами экспериментов подтвердили эту возможность. Установлено, что для своевременного обеспечения рыбок кислородом и для достижения эффективного антигипоксического действия перекись водорода следует вводить в воду либо до помещения в нее рыб (то есть перед прекращением поступления воздуха в воду), либо после помещения рыб в воду и после начала прекращения доступа в нее воздуха, но не позднее 40 секунд после появления беспорядочной двигательной активности у рыб, которая возникает в конце адаптации их к гипоксии.

Оказалось, что в условиях нормального атмосферного давления и температуры воды в пределах 16°C введение перед началом эксперимента в воду с рыбками породы голубые неоны, переживающими острую гипоксии, раствора 6% перекиси водорода в дозе 0,2 мл/кг рыбы, позволяет продлить период сохранения рыбок живыми с 49,73 ± 2,10 до 99,10 ± 4,70 минут. Иными словами, введение в воду раствора 6% перекиси водорода в дозе 0,2 мл/кг рыбы обеспечивает удлинение продолжительности жизни рыб в

воде, лишенной кислорода, практически в 2 раза.

Подобные же данные получены нами в опытах с рыбками породы гуппи и голубые неоны при гипоксии в условиях нормального атмосферного давления при температуре воды 26°C. Показано, что в этих условиях раствор 6% перекиси водорода в дозе 0,2 мл/кг рыбы также удлиняет период сохранения живых рыб. Так, рыбки породы голубые неоны и гуппи в контроле погибают соответственно через с 25,3 ± 1,31 и 27,4 ± 1,32 минут (P ≤ 0,05, n = 5), а в присутствии перекиси водорода - через 52,43 ± 2,43 и 57,11 ± 2,45 минут (P ≤ 0,05, n = 5) (соответственно).

Кроме этого показано, что введение в воду с рыбками раствора 6% перекиси водорода в дозе 0,8 мл/кг рыбы после исчерпания резервов адаптации рыбок к гипоксии и при наступлении у них периода чрезмерно высокой двигательной активности, в дозе, увеличенной в 4 раза, приводит к гибели 100% рыбок через 5 – 12 минут после введения препарата.

Вслед за этим нами была изучена динамика двигательной активности рыб в воде и продолжительность жизни рыбок в ней при прекращении поступления в нее воздуха после введения в воду современных антигипоксантов в концентрациях, аналогичных их концентрации в крови взрослых людей, возникающих при внутривенном введении средних терапевтических доз. Показано, что введение в воду с рыбками оксибутирата натрия, олифена, эпофена, эмоксипина, мексидола, мафусола или реамберина и создание в воде их концентраций, равных коллнцентрациям этих лекарств в крови пациентов, не удлиняет период сохранения рыбок живыми в 5 мл воды при 26°C после прекращения поступления в нее воздуха.

Полученные результаты свидетельствуют, с одной стороны, о возможности использования аквариумных рыбок породы гуппи и голубые неоны для расширения информации при проведении научных экспериментов в области термогипоксии и термофармакологии, а с другой стороны – о способности гипербарии, гипотермии и перекиси водорода эффективно отодвигать момент наступления смерти рыб в воде в условиях прекращения поступления в нее воздуха, что может найти применение для увеличения сроков хранения и транспортировки живой рыбы.

Список литературы

1. Дементьев В.Б., Ураков А.Л., Уракова Н.А., Михайлова Н.А., Соколова Н.В., Толстолуцкий А.Ю., Щинов Ю.Н., Назарова Н.А., Кашковский М.Л., Сюткина Ю.С. Особенности эрозии патологического биологического агента при его

- вспенивании, нагревании и защелачивании// Химическая физика и мезоскопия. - 2009. - Т. 11, - № 2. - С. 229 – 234.
2. Ураков А.Л. Использование гипотермии для изыскания принципиальных путей фармакологической защиты миокарда от повреждения в ранний период острой ишемии// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1984. - № 4. - С. 512.
3. Ураков А.Л. Рецепт на температуру// Наука и жизнь. - 1989. - № 9. - С. 38 – 42.
4. Ураков А.Л. Медицинская термофармакология// Экономический вестник фармации. - 2000. - № 8. - С. 101 – 104.
5. Ураков А.Л., Стрелков Н.С., Садилова П.Ю., Уракова Н.А., Гасников К.В. Способ биологической оценки степени постинъекционной безопасности лекарственных средств// Проблемы экспертизы в медицине. - 2006. - № 4. - С. 67 – 69.
6. Ураков А.Л., Уракова Н.А., Уракова Т.В., Руднов В.А., Юшков Б.Г., Касаткин А.А., Козлова Т.С. Многоцветность изображения рук на экране тепловизора как показатель эффективности реанимационных мероприятий при клинической смерти// Вестник Уральской медицинской академической науки. - 2010. - № 1 (28). - С. 57 – 59.
7. Ураков А.Л., Уракова Н.А., Уракова Т.В., Касаткин А.А., Козлова Т.С. Влияние кратковременной гипоксии и ишемии на температуру кистей рук и цветовую гамму их изображения на экране тепловизора// Медицинский альманах. - 2010. - № 2. - С. 299 – 301.
8. Ураков А.Л., Уракова Н.А. Устойчивость плода к гипоксии и родам// Вестник Российской военно-медицинской академии. - 2012. - Т. 4. - С.221 – 223.
9. Ураков А.Л. Холод в защиту сердца// Успехи современного естествознания. - 2013. - № 11. - С. 32 – 36.
10. Чернова Л.В. Антигипоксанты: миф или реальность ? // Электронный научно-образовательный вестник Здоровье и образование в XXI веке. - 2013. - Т. 15. - № 6. - С. 20 - 23.
11. Чернова Л.В. Динамика двигательной активности аквариумных рыбок при их гипоксии// Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке. - 2014. - Т. 16. - № 3. - С. 9 - 11.
12. Чернова Л.В. Влияние температуры на динамику цвета плавников и двигательной активности взрослых аквариумных рыбок при острой гипоксии// Международный научно-исследовательский журнал. - 2014. - № 3 (22). - С. 117 - 118.
13. Urakov A., Urakova N., Kasatkin A. Temperature of newborns as a sign of life in Russia - time to change in World ?// J. Perinat. Med. - 2013. – V. 41. - P. 473.
14. Urakov A., Urakova N., Dementyev V. Infrared thermography as a means to quantify the effects of intrauterine fetal hypoxia// Resuscitation. - 2013. - V. 84S. - P. S73 - S74.
15. Urakov A.L., Kasatkin A.A., Urakova N.A., Kurt A. Infrared thermographic investigation of fingers and palms during and after application of cuff occlusion test in patients with hemorrhagic shock// Thermology International. - 2014. - V. 24. N 1. - P. 5 – 10.
16. Urakov A.L., Urakova N.A., Kasatkin A.A. Local hypothermia skin above cranium skull fetus in the final period births may be a symptom of hypoxia and ischemia of the cortex of his brain// 18TH World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility (COGI) (October 24-27, 2013, Vienna, Austria). - Editor Z. Ben-Rafael. - Milano (Italy): Monduzzi editoriale proceedings. – 2014. - P. 177 – 181.