

Исследование метаболических нарушений у крыс при воздействии гипобарической гипоксии и разработка подходов коррекции путём одновременного воздействия на разные звенья патогенеза

Ирина Ивановна Сёмина^{1*}, Африда Загитовна Байчурина¹,
Елена Владимировна Шиловская¹, Надия Анверовна Тихонова²,
Дмитрий Олегович Никитин¹, Екатерина Владимировна Бегичева³,
Амина Гаязовна Овчинникова¹

¹Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия;

²Госпиталь для ветеранов войн, г. Казани, Россия;

³Республиканская клиническая больница, г. Казань, Россия

Реферат

Цель. Исследовать показатели метаболических изменений в крови и структурах мозга крыс после воздействия гипобарической гипоксии и определить возможные фармакологические пути коррекции этих изменений.

Методы. Гипобарическую гипоксию у крыс моделировали в течение 30 мин в барокамере, имитируя подъём на высоту 8500 м. Через 3 и 24 ч после гипоксии в сыворотке крови определяли активность аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, креатинфосфокиназы, лактатдегидрогеназы, содержание глюкозы, общего белка, триглицеридов, холестерина, β -липопротеидов, железа, мочевой кислоты. В гиппокампе и фронтальной коре мозга исследовали уровень малонового диальдегида. Изучение влияния на эти показатели 2-хлорэтокс-арил-диметил-аминофенилфосфорил-ацетогидразида (1 мг/кг) и пирацетама (100 мг/кг) осуществляли при их внутривенном введении за 40 мин до гипоксии и через 1 ч после извлечения крыс из барокамеры. Статистическую обработку проводили с использованием программы GraphPad prism 8.0.1 с вычислением t-критерия Стьюдента.

Результаты. Гипобарическая гипоксия вызывала у крыс развитие гиперферментемии и дислипидемии — через 3 ч в сыворотке крови крыс повышалась активность практически всех исследуемых ферментов, уменьшалось содержание триглицеридов и увеличивалась концентрация холестерина; в гиппокампе и фронтальной коре мозга возрастало содержание малонового диальдегида. Через 24 ч после гипоксии был отмечен повышенный уровень креатинфосфокиназы в сыворотке крови и малонового диальдегида в структурах мозга. Применение 2-хлорэтокс-арил-диметил-аминофенилфосфорил-ацетогидразида предупреждало развитие гиперферментемии, дислипидемии и корригировало повышенный через 24 ч уровень креатинфосфокиназы; при обоих режимах введения снижало содержание малонового диальдегида. Пирацетам проявил небольшой эффект только при профилактическом введении, предотвращая повышение в крови активности щелочной фосфатазы и уровня холестерина.

Вывод. Выявленная эффективность 2-хлорэтокс-арил-диметил-аминофенилфосфорил-ацетогидразида и изученный ранее его комплексный механизм действия дают основание рассматривать этот препарат как потенциальное лекарственное средство для профилактики гипоксических нарушений и ускорения адаптации к высотной гипоксии.

Ключевые слова: гипобарическая гипоксия, гиперферментемия, дислипидемия, малоновый диальдегид, комплексный механизм действия лекарств, 2-хлорэтокс-арил-диметил-аминофенилфосфорил-ацетогидразид.

Для цитирования: Сёмина И.И., Байчурина А.З., Шиловская Е.В., Тихонова Н.А., Никитин Д.О., Бегичева Е.В., Овчинникова А.Г. Исследование метаболических нарушений у крыс при воздействии гипобарической гипоксии и разработка подходов коррекции путём одновременного воздействия на разные звенья патогенеза. *Казанский мед. ж.* 2021; 102 (5): 654–662. DOI: 10.17816/KMJ2021-654.

Study of metabolic disorders in rats under exposure to hypobaric hypoxia and development of correction approaches by simultaneous action on different elements of pathogenesis

I.I. Semina¹, A.Z. Baychurina¹, E.V. Shilovskaya¹, N.A. Tikhonova², D.O. Nikitin¹, E.V. Begicheva³, A.G. Ovchinnikova¹

¹Kazan State Medical University, Kazan, Russia;

²Hospital for War Veterans, Kazan, Russia;

³Republican Clinical Hospital, Kazan, Russia

Abstract

Aim. To study the indicators of metabolic changes in the blood and brain structures of rats after exposure to hypobaric hypoxia and to determine possible pharmacological approaches to correction these changes.

Methods. Hypobaric hypoxia in rats was simulated for 30 minutes in a pressure chamber, simulating an ascent to 8500 m. 3 and 24 hours after hypoxia, the activity of alanine aminotransferase, aspartic aminotransferases, alkaline phosphatase, creatine phosphokinase, lactate dehydrogenase, the content of glucose, total protein, triglycerides, cholesterol, β -lipoproteins, iron and uric acid were determined in the blood serum. The level of malondialdehyde in the hippocampus and frontal cortex was examined. The studies of the effect of 2-chloroethoxy-aryl-dimethyl-aminophenylphosphorylaceto-hydrazide (CAPAH) (1 mg/kg) and Piracetam (100 mg/kg) after intraperitoneal injection 40 minutes before hypoxia and 1 hour after removing the rats from the pressure chamber were carried out. Statistical analysis was carried out using the GraphPad Prism software version 8.0.1, and the Student's t-test was used to test statistical significance.

Results. After 3 hours of hypobaric hypoxia, rats showed hyperenzymemia and dyslipidemia, the activity of almost all studied enzymes in the blood serum of rats was increased, the content of triglycerides was decreased, and the concentration of cholesterol was increased, the content of malondialdehyde in the hippocampus and frontal cortex was increased. In 24 hours after hypoxia, an increased level of creatine phosphokinase in the blood serum and malondialdehyde in the brain structures were noted. The use of 2-chloroethoxy-aryl-dimethyl-aminophenylphosphorylaceto-hydrazide prevented the development of hyperenzymemia, dyslipidemia and corrected the increased level of creatine phosphokinase after 24 hours; in both modes of administration, it reduced the serum level of malondialdehyde. Piracetam showed little effect only when administered prophylactically, preventing an increase in serum alkaline phosphatase activity and cholesterol levels.

Conclusion. The revealed efficacy of 2-chloroethoxy-aryl-dimethyl-aminophenylphosphorylaceto-hydrazide and its previously studied complex mechanism of action suggest that 2-chloroethoxy-aryl-dimethyl-aminophenylphosphorylaceto-hydrazide is a potential drug for the prevention of hypoxic disorders and acceleration of adaptation to high-altitude hypoxia.

Keywords: hypobaric hypoxia, hyperenzymemia, dyslipidemia, malondialdehyde, complex mechanism of drug action, 2-chloroethoxy-aryl-dimethyl-aminophenylphosphorylaceto-hydrazide, (CAPAH).

For citation: Semina I.I., Baychurina A.Z., Shilovskaya E.V., Tikhonova N.A., Nikitin D.O., Begicheva E.V., Ovchinnikova A.G. Study of metabolic disorders in rats under exposure to hypobaric hypoxia and development of correction approaches by simultaneous action on different elements of pathogenesis. *Kazan Medical Journal*. 2021; 102 (5): 654–662. DOI: 10.17816/KMJ2021-654.

Актуальность. Гипоксия — ведущий патогенетический фактор многих заболеваний, она затрагивает все без исключения системы как на организменном, так и на субклеточном уровнях. В наибольшей степени от гипоксии в связи с высокой интенсивностью его метаболизма страдает головной мозг [1, 2]. Изменения, обусловленные нарушением метаболических процессов, накоплением продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), вызванными гипоксией различного генеза и интенсивности, становятся одними из ведущих патогенетических факторов ухудшения когнитивно-мнестических функций.

Гипобарическая гипоксия (ГГ) — основной синдром высотной болезни. Известно, что ат-

мосферный воздух на всех высотах на 21% состоит из кислорода, при подъёме на высоту атмосферное давление падает, снижается парциальное давление, существенно уменьшается уровень вдыхаемого кислорода. Это приводит к развитию гипоксического состояния, вызывая ряд патологических реакций, включая биохимические, молекулярные и геномные изменения, большинство из которых сосредоточены на головном мозге [3]. Кислородная недостаточность в структурах мозга приводит к развитию оксидативного стресса, запускающего процессы нейродегенерации с последующим нарушением функций нейротрансмиттерных систем [4] в первую очередь в гиппокампе и фронталь-

ном отделе коры головного мозга, что приводит к ухудшению памяти и процессов обучения [5].

Поскольку центральными нарушениями в патогенезе гипоксических повреждений являются изменения энергетических процессов, целостности мембранных структур и ферментных систем, необходимы профилактика и коррекция этих нарушений с помощью фармакологических веществ, способных направленно вмешиваться в процессы повышения устойчивости к гипоксическому воздействию, ускорять адаптацию и предупреждать нарушения функций мозга [6].

В настоящее время для лечения последствий гипоксического воздействия применяют антигипоксанта, повышающие устойчивость клеток к недостатку кислорода, антиоксиданты, способные нормализовать процессы ПОЛ, ноотропные средства, улучшающие функции мозга [7]. Учитывая многообразие механизмов развития гипоксических повреждений, широкий спектр неспецифических эффектов, зависящих от степени и последствий нарушений метаболизма в различных органах, необходимо применение препаратов, оказывающих одновременное воздействие на разные звенья патогенеза этих повреждений.

Ранее было показано, что инновационный препарат 2-хлорэтокси-арил-диметил-аминофенилфосфорил-ацетогидразид (КАПАХ, принятая в России транслитерация английской аббревиатуры САРАН — от англ. 2-Chloroethoxy-aryl-dimethyl-AminophenylPhosphoryl AcetoHydrazide), находящийся на завершающей стадии доклинических исследований, обладает мультитаргетным механизмом действия, в эксперименте проявляет защитное действие при гипоксии различного генеза, предотвращает дегенерацию кортикальных нейронов крыс, подвергнутых гипоксическому воздействию [8]. Наиболее важна в спектре фармакологического действия КАПАХ его способность в широком диапазоне доз улучшать процессы памяти и обучения, нарушенные гипоксическим воздействием, выявленная в экспериментах на монгольских песчанках [9].

Цель. Учитывая вышесказанное и с целью проверки гипотезы об эффективности одновременного фармакологического воздействия на разные звенья патогенеза при гипоксии, мы сочли необходимым изучить целесообразность применения КАПАХ в предупреждении и коррекции нарушений, вызванных воздействием ГГ, и позиционировать его как потенциальное лекарственное средство с комплексным (мультитаргетным) механизмом действия для профи-

лактики и лечения высотной болезни и других патологических гипоксических состояний.

Материал и методы исследования. Эксперименты проведены на 120 крысах-самцах линии Вистар с массой тела 180–210 г, из которых были сформированы 12 групп по 10 животных. До начала экспериментов всех животных содержали в стандартных условиях вивария с естественным световым режимом на полнорационной сбалансированной диете (ГОСТ Р 50258-92) с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997), а также правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ, утверждённых приказом Минздрава РФ №708н от 23.08.2010. Все исследования одобрены локальным этическим комитетом Казанского государственного медицинского университета Минздрава России (протокол №10 от 19.12.2017).

ГГ у крыс моделировали в течение 30 мин в барокамере (объём барокамеры 7,5 л, рассчитанный на одну крысу), имитируя подъём на высоту 8500 м со скоростью 500 м/мин [10].

Объектами исследования были потенциальный лекарственный препарат КАПАХ, находящийся на завершающей стадии доклинических испытаний, и ноотропный лекарственный препарат пирацетам в ампулах (АО «Органика», Россия).

Были проведены две серии экспериментов:

а) изучение биохимических показателей в сыворотке крови через 3 ч после воздействия гипоксии при профилактическом (за 40 мин до помещения крысы в барокамеру) введении препаратов;

б) изучение биохимических показателей в сыворотке крови через 24 ч после гипоксического воздействия при введении препаратов в режиме «лечения» через 1 ч после извлечения животного из барокамеры.

Отдельные группы составляли крысы, которых не подвергали воздействию ГГ (группа контрольных животных; группа крыс, которым вводили КАПАХ; группа крыс, которым вводили пирацетам). Забор крови у этих групп животных производили на тех же сроках.

Фармакологические агенты вводили однократно внутривенно: КАПАХ в дозе 1 мг/кг (1/1000 от LD_{50} ¹, является максимально эффективной при гипоксических воздействиях; пирацетам — в дозе 100 мг/кг, составляет 1/100

¹ LD_{50} — доза, при которой погибает 50% экспериментальных животных.

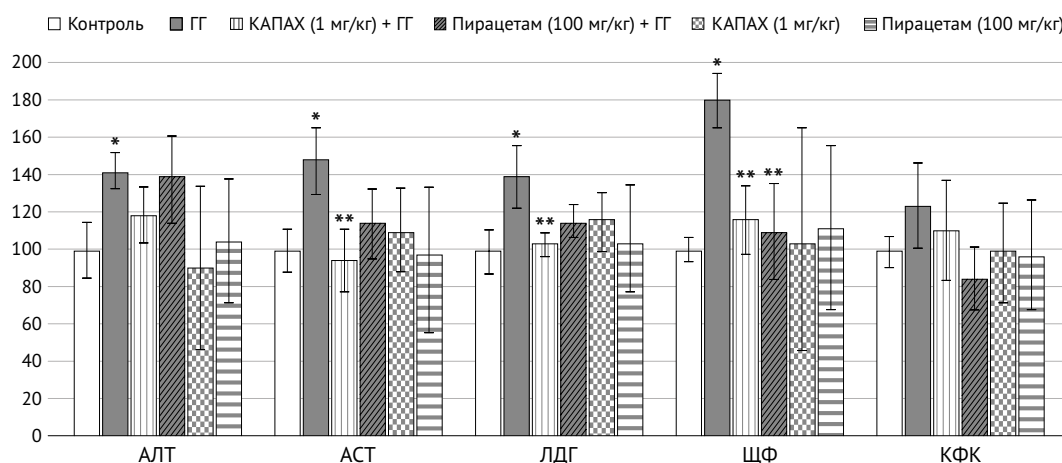


Рис. 1. Активность ферментов в сыворотке крови крыс через 3 ч после воздействия гипобарической гипоксии (ГГ) при введении 2-хлорэтокс-арил-диметил-аминофенилфосфорил-ацетогидразида (КАПАХ; 1 мг/кг внутривенно) и пирацетама (100 мг/кг внутривенно) за 40 мин до помещения крысы в барокамеру. По оси абсцисс — названия ферментов; по оси ординат — активность ферментов (%) по отношению к контрольным значениям, принятым за 100%. Количество крыс в каждой группе $n=10$. АЛТ — аланинаминотрансфераза; АСТ — аспартатаминотрансфераза; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; ЩФ — щелочная фосфатаза; КФК — креатинфосфокиназа; *разница достоверна по отношению к контролю; **разница достоверна по отношению к ГГ.

от LD_{50} , стандартная доза как препарата сравнения, используемая в экспериментах). Крысам, подвергнутым ГГ (без коррекции КАПАХ или пирацетамом), и контрольным животным (без воздействия ГГ) в эквивалентном объёме вводили изотонический раствор натрия хлорида.

Через 3 ч (а) и 24 ч (б) у крыс из хвостовой вены забирали кровь для определения активности ферментов, после чего крыс декапитировали с использованием гильотины (установка НПО «Открытая наука») и забирали кровь для определения других биохимических показателей. Параллельно проводили быстрое выделение структур мозга (гиппокампа и фронтальной коры) для определения содержания малонового диальдегида (МДА).

Образцы сыворотки крови готовили путём отстаивания цельной крови при комнатной температуре для коагуляции и с последующим центрифугированием в течение 10 мин при 3000 об./мин. Активность аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, креатинфосфокиназы, лактатдегидрогеназы, γ -глутамилтранспептидазы, а также содержание глюкозы, общего белка, триглицеридов, холестерина, β -липопротеидов, сывороточного железа и мочевой кислоты проводили на анализаторе Cobas Integra 400 Plus, Hoffman la Roche (Швейцария) с использованием моно-тестов той же фирмы согласно инструкции.

О накоплении МДА как основного маркера процесса ПОЛ в структурах мозга крыс судили по реакции с тиобарбитуровой кислотой согласно методу [11]. Определение проводили на спек-

трофотометре BioMate 3S (Thermo Scientific, США) при длине волны 532 нм. Количество МДА рассчитывали в мкм/кг сырой ткани.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы GraphPad prism 8.0.1 с вычислением t-критерия Стьюдента.

Результаты. На «высоте» 8500 м у животных отмечали признаки развития гипоксии: акроцианоз, учащение дыхания, снижение двигательной активности, увеличение количества дефекаций, развитие «бокового положения».

Острая гипоксия вызывала развитие гиперферментемии. Через 3 ч после воздействия ГГ в сыворотке крови крыс возрастала активность ферментов: аланинаминотрансферазы (ГГ $87,1 \pm 6,9$ ед./л, контроль $61,7 \pm 7,5$ ед./л при $p=0,03$), аспартатаминотрансферазы (ГГ $275,5 \pm 29,3$ ед./л, контроль $185,5 \pm 23,5$ ед./л при $p=0,05$), лактатдегидрогеназы (ГГ $3085,6 \pm 326,7$ ед./л, контроль $2209,6 \pm 228,6$ ед./л при $p=0,02$), щелочной фосфатазы (ГГ $44,8 \pm 3,5$ ед./л, контроль $24,7 \pm 1,4$ ед./л при $p=0,015$).

На рис. 1 представлена сравнительная оценка активности ферментов после воздействия ГГ на фоне профилактического введения препаратов, результаты которой для наглядности выражены в процентах.

Профилактическое применение КАПАХ предупреждало развитие вызванной ГГ гиперферментемии: активность всех исследованных ферментов не отличалась от показателей контрольных значений. На фоне введения пирацетама аналогичная тенденция была отмечена только в случае с щелочной фосфатазой, тогда

Таблица 1. Биохимические показатели крови крыс через 3 ч после воздействия гипобарической гипоксии (ГГ) и влияние на эти показатели 2-хлорэтоксипиридина (КАПАХ) и пираретама при введении за 40 мин до помещения животного в барокамеру

Группа животных	Количество в группе	Глюкоза, ммоль/л, M±m	Общий белок, г/л, M±m	Триглицериды, ммоль/л, M±m	Холестерин, ммоль/л, M±m	Холестерин/триглицериды, M±m	β-Липопротеиды, мг/%, M±m	Мочевина, ммоль/л, M±m	Креатинин, ммоль/л, M±m	Железо, ммоль/л, M±m	Мочевая кислота, ммоль/л, M±m
Контроль	10	4,5±0,3	79,5±1,8	0,81±0,1	0,62±0,09	0,77±0,1	74,2±4,1	5,81±0,56	44,4±2,4	27,03±4,2	384,0±94,5
ГГ	10	4,6±0,3	81,7±2,5	0,53±0,06* p=0,04	0,84±0,05* p=0,03	1,66±0,3* p=0,01	68,3±5,1	5,00±0,46	45,3±1,7	27,7±3,8	433,2±10,7
КАПАХ (1 мг/кг) + ГГ	10	4,4±0,3	80,0±2,2	0,58±0,04	0,60±0,05** p=0,03	1,01±0,03** p=0,05	70,2±6,0	3,60±0,29** p=0,02	37,0±1,5** p=0,015	22,4±2,1	350,3±101,2
Пираретам (100 г/кг) + ГГ	10	4,3±0,3	79,6±1,9	0,54±0,06	0,55±0,05** p=0,03	1,05±0,17	70,4±4,2	5,03±0,32	44,9±2,6	24,2±3,5	424,7±127,1
КАПАХ (1 мг/кг)	10	4,7±0,4	76,4±2,1	0,76±0,2	0,68±0,05	0,89±0,1	73,2±4,1	6,10±0,62	48,0±0,51	28,7±4,1	350,7±80,2
Пираретам (100 мг/кг)	10	4,6±0,3	78,5±2,1	0,71±0,2	0,72±0,09	0,87±0,3	69,2±3,8	5,61±0,42	46,2±0,31	29,4±4,5	381±73,1

Примечание: *разница достоверна относительно контроля; **разница достоверна относительно ГГ.

как активность других ферментов не отличалась от таковых у крыс с ГГ.

Результаты исследования других биохимических показателей, представленные в табл. 1, показывают, что через 3 ч после гипоксического воздействия в сыворотке крови крыс развивалась дислипидемия: уменьшилось содержание триглицеридов и увеличилась концентрация холестерина, что сопровождалось увеличением соотношения холестерин/триглицериды. Изменений остальных показателей сыворотки крови после воздействия ГГ (мочевина, креатинина, мочевой кислоты, белка, глюкозы, β-липопротеидов, железа и билирубина) на этом сроке наблюдения нами не выявлено.

Профилактическое введение КАПАХ предупреждало повышение уровня холестерина и изменение коэффициента холестерин/триглицериды в сыворотке крови. Кроме того, на фоне применения КАПАХ у крыс отмечено снижение содержания мочевины и креатинина по сравнению с группой ГГ. Применение пираретама также вызывало нормализацию содержания холестерина, но показатели соотношения холестерин/триглицериды при этом не отличались от таковых в группе крыс, подвергнутых воздействию ГГ.

Результаты второй серии экспериментов продемонстрировали, что через 24 ч после воздействия ГГ в крови крыс был отмечен только повышенный уровень креатинфосфокиназы, показатели активности остальных ферментов не отличались от контрольных (табл. 2). Применение КАПАХ после гипоксии приводило к нормализации активности креатинфосфокиназы, повышенной при гипоксическом воздействии.

Что касается биохимических показателей крови, то через 24 ч после ГГ нами не было выявлено каких-либо различий между опытными и контрольными значениями, в том числе в показателях триглицеридов и холестерина, изменение которых было отмечено через 3 ч после воздействия гипоксии.

Следует отметить, что введение КАПАХ и пираретама крысам без воздействия гипоксии не вызывало изменений активности ферментов и других биохимических показателей сыворотки крови (см. табл. 1 и 2).

Оксидативный стресс — одно из ключевых звеньев в патогенезе ГГ и других видов гипоксий, в первую очередь он затрагивает структуры головного мозга. Исследование содержания основного маркера активации процесса ПОЛ — МДА — в гиппокампе и фронтальной коре мозга крыс через 3 ч после воздействия ГГ показало существенное повышение

Таблица 2. Активность ферментов крови крыс через 24 ч после воздействия гипобарической гипоксии (ГГ) и влияние на эти показатели 2-хлорэтокси-арил-диметил-аминофенилфосфорил-ацетогидразида (КАПАХ) и пирацетама при введении через 1 ч после извлечения крысы из барокамеры

Группа животных	Аланинаминотрансфераза, ед./л, $M \pm m$	Аспаратаминотрансфераза, ед./л, $M \pm m$	Лактатдегидрогеназа, ед./л, $M \pm m$	Креатинфосфокиназа, ед./л, $M \pm m$	γ -Глутамилтранспептидаза, ед./л, $M \pm m$
Контроль	67,37 $\pm$ 7,90	107,37 $\pm$ 17,91	2336,3 $\pm$ 240,5	794,5 $\pm$ 72,7	1,65 $\pm$ 0,36
ГГ	77,21 $\pm$ 13,69	134,78 $\pm$ 23,59	2639,8 $\pm$ 182,4	1248 $\pm$ 109,2* p=0,01	1,46 $\pm$ 0,44
ГГ + КАПАХ (1 мг/кг)	64,86 $\pm$ 6,85	132,75 $\pm$ 18,1	2131,9 $\pm$ 286,6	867,6 $\pm$ 100,4** p=0,03	2,92 $\pm$ 0,71
ГГ + пирацетам (100 мг/кг)	66,75 $\pm$ 7,35	128,75 $\pm$ 19,1	2224,7 $\pm$ 344,4	1195,8 $\pm$ 119,4*	2,74 $\pm$ 0,91
КАПАХ (1 мг/кг)	72,35 $\pm$ 10,07	119,48 $\pm$ 19,49	2578,0 $\pm$ 470,1	706,2 $\pm$ 150,9	2,57 $\pm$ 0,27
Пирацетам (100 мг/кг)	69,47 $\pm$ 8,90	127,35 $\pm$ 27,91	2435,3 $\pm$ 280,5	786,5 $\pm$ 79,7	1,85 $\pm$ 0,39

Примечание: *разница достоверна относительно контроля; **разница достоверна относительно ГГ.

его содержания по сравнению с контрольными животными: во фронтальной коре — в 1,9 раза (51,4 $\pm$ 3,7 мкМоль/кг) при p=0,05 относительно контрольных крыс (27,4 $\pm$ 2,1 мкМоль/кг); в гиппокампе — в 1,7 раза (44,2 $\pm$ 2,8 мкМоль/кг) при p=0,01 относительно контрольных крыс (25,8 $\pm$ 1,9 мкМоль/кг). Профилактическое введение КАПАХ уменьшало накопление МДА в обеих исследованных структурах: во фронтальной коре в 1,4 раза (39,4 $\pm$ 1,9 мкМоль/кг), p=0,03 относительно ГГ; в гиппокампе — в 1,5 раза (29,3 $\pm$ 2,6 мкМоль/кг), p=0,02 относительно ГГ. Профилактическое введение пирацетама (100 мг/кг) не приводило к достоверному снижению уровня этого показателя по сравнению с животными после воздействия ГГ.

Обсуждение. ГГ — кардинальный признак разряженной среды, которая бывает результатом снижения барометрического давления при подъеме на высоту, понижения парциального давления и уровня кислорода во вдыхаемом воздухе, что приводит к широкому спектру неспецифических эффектов в отношении различных органов. В первую очередь и в большей степени страдает головной мозг. Исследованиями показано, что ГГ, возникающая на высоте выше 2500 м, приводит к уменьшению количества нервных клеток во фронтальной коре и гиппокампе, растворению хроматина в нейронах фронтальной коры [12]. Развивающийся окислительный стресс и сопутствующие метаболические нарушения, приводят к нарушению памяти и когнитивных функций [6, 12].

Данные литературы свидетельствуют, что наиболее существенные изменения метаболизма происходят в первые часы периода восстановления после окончания гипоксического

воздействия [13, 14], поэтому на первом этапе исследований мы изучили изменения некоторых биохимических показателей через 3 ч после воздействия гипоксии.

На этом сроке отмечена выраженная гиперферментемия, проявившаяся повышением активности аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы, что связывают с повышением пассивной проницаемости биологических мембран, их дезорганизацией, приводящей к выходу ферментов в межклеточную жидкость и кровь, что вызывает нарушения обмена веществ и вторичную гипоксическую альтерацию тканей [15].

Нарушение целостности клеточных мембран и выход в кровь ферментов сопровождалось повышением содержания холестерина, снижением уровня триглицеридов и увеличением соотношения холестерин/триглицериды. Известно, что активация липолиза при гипоксии происходит в результате повышения активности липаз и развившегося ацидоза [3], что сопровождается накоплением избытка кетонных тел и высших жирных кислот. Последние могут оказывать разобщающее влияние на процессы окисления и фосфорилирования, тем самым усугубляя гипоксию [16].

Среди механизмов, приводящих к повреждению биологических мембран клеток и дезинтеграции различных биосистем в условиях гипоксии, необходимо выделить, прежде всего, активацию свободнорадикального окисления липидов [6, 17]. Мозг наиболее уязвим и чувствителен к интенсификации этого процесса [5, 18], и нами также было отмечено значительное повышение содержания МДА, основного мар-

кёра ПОЛ, в гиппокампе и фронтальной коре мозга крыс после воздействия ГГ.

Таким образом, анализ полученных нами на первом этапе результатов показал, что через 3 ч после 30-минутного воздействия ГГ развиваются многочисленные биохимические изменения в звеньях патогенеза, что свидетельствует о необходимости комплексного медикаментозного подхода для их профилактики и коррекции.

На втором этапе исследований, через 24 ч после воздействия ГГ в сыворотке крови крыс произошла нормализация многих биохимических показателей, но был отмечен повышенный уровень креатинфосфокиназы, активность которой в отличие от других ферментов не изменялась на ранней стадии. Возникает вопрос, почему активность креатинфосфокиназы в сыворотке крови повысилась только через 24 ч, тогда как высокое содержание других ферментов, обусловленное выходом в кровь из-за повреждения клеточных мембран при ГГ, к этому времени уже нормализовалось.

По-видимому, этот эффект обусловлен тем, что креатинфосфокиназа служит ферментом энергетического обмена, и при гипоксическом воздействии её содержание в крови компенсаторно повышается с целью обеспечения клеток энергией в условиях дефицита кислорода [14, 19], но это действие развивается позднее 3 ч после гипоксии, поэтому на раннем этапе восстановительного периода этих изменений мы не увидели. Следует также подчеркнуть, что через 24 ч после воздействия ГГ у крыс не произошло восстановления содержания МДА в исследуемых структурах головного мозга, уровень этого маркёра процесса ПОЛ оставался по-прежнему повышенным в гиппокампе и фронтальной коре по сравнению с крысами контрольной группы.

Относительно быстрое восстановление большинства метаболических показателей не служит доказательством восстановления всего организма и его функционирования, подтверждением чего является развитие неврологического дефицита в ранние и отдалённые сроки периода восстановления [13, 14]. По этой причине для повышения устойчивости к гипоксическому воздействию и ускорению процессов адаптации необходимо направленное применение лекарственных средств.

Способность КАПАХ предупреждать развитие гиперферментемии при применении в режиме профилактики может быть результатом доказанного нами ранее мембраностабилизирующего действия этого вещества [20], существенно ослабляющего влияние гипоксии. Этот же механизм, по-видимому, играет опре-

делённую роль в эффективности КАПАХ при введении в режиме «лечения» последствий ГГ, снижение повышенного содержания креатинфосфокиназы в крови приводит к адекватному энергообеспечению организма при ГГ.

Профилактическое введение КАПАХ предупреждало также повышение содержания в крови холестерина и приводило к нормализации показателя холестерин/триглицериды, то есть уменьшало выраженность дислипидемических расстройств, развившихся после воздействия ГГ. Кроме того, у животных, которым до воздействия гипоксии был введён КАПАХ, в крови зарегистрировано снижение содержания мочевины и креатинина по сравнению с гипоксическими животными. Этот фактор может свидетельствовать о том, что под влиянием препарата во время гипоксии, возможно, снижается интенсивность энергопотребления путём угнетения мочевинообразования, что может служить защитой клетки при гипоксии и ишемии [14, 21].

Особую ценность имеет способность КАПАХ снижать уровень основного маркёра процесса ПОЛ — МДА — во фронтальной коре и гиппокампе. Как уже было упомянуто выше, накопление продуктов ПОЛ в гиппокампе и фронтальной коре приводит к ухудшению памяти и когнитивных функций, а постоянный высокий их уровень приводит к развитию нейродегенеративных процессов [22]. Возможными механизмами снижения содержания МДА при введении КАПАХ может быть наличие у него как собственно антиоксидантных свойств [9], так и мембраностабилизирующего действия [9, 20]. Кроме того, нельзя исключить выявленную ранее способность КАПАХ взаимодействовать с глициновыми участками NMDA-рецепторов, тем самым модулируя высвобождение внеклеточного глутамата и накопление ионов кальция, запускающих процесс пероксидации при гипоксии [8].

Следует отметить, что препарат сравнения пирацетам заметно уступал по эффективности КАПАХ на данной модели: в меньшей степени уменьшал гиперферментемию, не устранял вызванную гипоксией дислипидемию и не вызывал снижения уровня МДА в гиппокампе и фронтальной коре.

Использование нами широко применяемого в клинической практике лекарственного средства пирацетама в качестве препарата сравнения обусловлено наличием у него антигипоксических свойств, способности корректировать нарушенные метаболические процессы и улучшать процессы памяти и обучения [23].

Способность КАПАХ снижать вызванную ГГ интенсивность процессов ПОЛ в структурах мозга с одновременной коррекцией метаболических нарушений в сыворотке крови крыс даёт возможность позиционировать его как потенциальное лекарственное средство с комплексным механизмом действия для профилактики гипоксических нарушений и ускорения адаптации к высотной гипоксии.

Подводя итоги настоящего исследования, мы можем сделать заключение о необходимости использования при ГГ лекарственных средств с комплексным механизмом действия, способных одновременно оказывать действие на разные звенья патогенеза гипоксии.

ВЫВОД

Выявленная эффективность 2-хлорэтоксипарил-диметил-аминофенилфосфорил-ацетогидразида и изученный ранее его комплексный механизм действия дают основание рассматривать этот препарат как потенциальное лекарственное средство для профилактики гипоксических нарушений и ускорения адаптации к высотной гипоксии.

Участие авторов. И.И.С. — концепция и дизайн исследования, написание текста; А.З.Б. — общий анализ полученных данных, обзор литературы; Е.В.Ш. — проведение экспериментов, обработка полученных результатов; Н.А.Т. — анализ полученных данных в части биохимических исследований; Д.О.Н. — представление полученных результатов в виде таблиц и рисунков, список литературы; Е.В.Б. — проведение биохимических экспериментов; А.Г.О. — обработка и анализ полученных результатов в части исследования перекисного окисления липидов.

Источник финансирования. Исследования выполнены в рамках государственного задания МЗ РФ «Соединения на основе четырёхкоординированного атома фосфора — оптимальная платформа для создания лекарственных препаратов с комплексным механизмом действия для лечения когнитивных нарушений» (2021–2023).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зарубина И.В. Современные представления о патогенезе гипоксии и её фармакологической коррекции. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* 2011; 9 (3): 31–48. [Zarubina I.V. Modern view on pathogenesis of hypoxia and its pharmacological correction. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii.* 2011; 9 (3): 31–48. (In Russ.)]

2. Chen P.S., Chiu W.T., Hsu P.L., Lin S.C., Peng I.C., Wang C.Y., Tsai S.J. Pathophysiological implications of hypoxia in human diseases. *J. Biomed. Sci.* 2020; 27 (1): 63–81. DOI: 10.1186/s12929-020-00658-7.

3. Woods D.R., O'Hara J.P., Boos C.J., Hodgkinson P.D., Tsakirides C., Hill N.E., Jose D., Hawkins A., Phillipson K., Hazlerigg A., Arjomandkhah N., Gallagher L., Holdsworth D., Cooke M., Donald N., Green C., Mellor A. Markers of physiological stress during exercise under conditions of normoxia, normobaric hypoxia, HH, and genuine high altitude. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2017; 117 (5): 893–900. DOI: 10.1007/s00421-017-3573-5.

4. Wang X.B., Hou Y., Li Q.Y., Li X., Wang W., Ai X., Kuang T., Chen X., Zhang Y., Zhang J., Hu Y., Meng X. Rhodiola crenulata attenuates apoptosis and mitochondrial energy metabolism disorder in rats with HH-induced brain injury by regulating the HIF-1 α /microRNA 210/ISCU1/2(COX10) signaling pathway. *J. Ethnopharmacol.* 2019; 241: 111801. DOI: 10.1016/j.jep.2019.03.028.

5. Hernández R., Blanco S., Peragón J., Pedrosa J.Á., Peinado M.Á. Hypobaric hypoxia and reoxygenation induce proteomic profile changes in the rat brain cortex. *Neur. Mol. Med.* 2013; 15 (1): 82–94. DOI: 10.1007/s12017-012-8197-7.

6. Li N., Li Q., Bai J., Chen K., Yang H., Wang W., Fan F., Zhang Y., Meng X., Kuang T., Fan G. The multiple organs insult and compensation mechanism in mice exposed to hypobaric hypoxia. *Cell. Stres. Chaperon.* 2020; 25: 779–791. DOI: 10.1007/s12192-020-01117-w.

7. Воронина Т.А. Антиоксиданты/антигипоксанты — недостающий пазл эффективной патогенетической терапии пациентов с COVID-19. *Инфекц. бол.* 2020; 18 (2): 97–103. [Voronina T.A. Antioxidants/antihypoxants: the missing puzzle piece in effective pathogenetic therapy for COVID-19. *Infektsionnye bolezni.* 2020; 18 (2): 97–103. (In Russ.)] DOI: 10.20953/1729-9225-2020-2-97-102.

8. Сёмина И.И., Тихонова Н.А., Байчурина А.З., Тарасова Р.И., Павлов В.А., Гараев Р.С., Шиловская Е.В. Нейропротективное действие КАПАХ, представляющего нового класса ноотропов — неантихолинэстеразных фосфорорганических соединений. *Вест. РАМН.* 1999; (3): 32–36. [Semina I.I., Tihonova N.A., Baichurina A.Z., Tarasova R.I., Pavlov V.A., Garaev R.S., Shilovskaya E.V. The neuroprotective effect of CAPAH, a representative of a new class of nootropics — non-anticholinesterase organophosphorus compounds. *Vestnik RAMN.* 1999; (3): 32–36. (In Russ.)]

9. Сёмина И.И., Байчурина А.З. Разработка новых потенциальных лекарственных средств с психотропной активностью среди фосфорилацетогидразидов и других производных фосфорилированных карбоновых кислот — приоритетное направление казанской школы психофармакологов. *Казанский мед. ж.* 2016; 97 (1): 148–155. [Semina I.I., Baychurina A.Z. Development of new potential drugs with psychotropic activity among phosphorylacetohydrazides and other phosphorylated carboxylic acids derivatives - priority area of Kazan school of psychopharmacologists. *Kazan Medical Journal.* 2016; 97 (1): 148–155. (In Russ.)] DOI: 10.17750/KMJ2016-148.

10. Лосев А.С., Алыбаев А.М., Карпова Т.Д. Восстановление после острой гипобарической гипоксии как метод изучения антигипоксической активности химических соединений. В сб.: *Фармакологическая регуляция состояний дезадаптации.* М.: АМН СССР. 1986; 54–67. [Losev A.S., Alybaev A.M., Karpova T.D. Vosstanovlenie posle ostroj gipobaricheskoy gipoksii kak metod

izucheniya antigipoksicheskoy aktivnosti himicheskikh soedinenij. In: *Farmakologicheskaya regulaciya sostoyanij dezadaptacii*. (Pharmacological regulation of maladjustment states.) M.: AMN SSSR. 1986; 54–67. (In Russ.)]

11. Стальная И.Д., Гаршвили Т.Г. *Определение малонового диальдегида (МДА) в биохимии*. М.: Медицина. 1977; 66–68. [Stal'naya I.D., Garshvili T.G. *Opreделение malonovogo dial'degida (MDA) v biohimii*. M.: Medicina. 1977; 66–68. (In Russ.)]

12. Liu P., Zou D., Chen K., Zhou Q., Gao Y., Huang Y., Zhu J., Zhang Q., Mi M. dihydromyricetin improves hypobaric hypoxia-induced memory impairment via modulation of SIRT3 signaling. *Mol. Neurobiol.* 2016; 53: 7200–7212. DOI: 10.1007/s12035-017-0399-4.

13. Bärtsch P., Swenson E.R. Acute high-altitude illnesses. *N. Engl. J. Med.* 2013; 368 (24): 2294–2302. DOI: 10.1056/NEJMcpl214870.

14. Xi D., Zhang R., Ye S., Liu F., Jiang P., Yu X., Xu J., Ma L., Cao H., Shen Y., Lin F., Wang Z., Li C. Alterations of human plasma proteome profile on adaptation to high-altitude. *J. Proteome Res.* 2019; 18 (5): 2021–2031. DOI: 10.1021/acs.jproteome.8b00911.

15. Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б., Капанадзе Г.Д., Ревякин А.О., Семёнов Х.Х., Болотова В.Ц., Дуля М.С. Теоретические основы фармакологических эффектов антигипоксантов. В кн.: *Биомедицинское (доклиническое) изучение антигипоксической активности лекарственных средств*. М.: НЦБТ ФМБА. 2017; 97 с. [Karkishchenko N.N., Karkishchenko V.N., Shustov E.B., Kapanadze G.D., Revyakin A.O., Semenov H.H., Bolotova V.C., Dulya M.S. Teoreticheskie osnovy farmakologicheskikh effektivov antigipoksantov. In: *Biomedicinskoe (doklinicheskoe) izuchenie antigipoksicheskoy aktivnosti lekarstvennykh sredstv*. (Biomedical (pre-clinical) study of the antihypoxic activity of drugs.) M.: NCBT FMBA. 2017; 97 p. (In Russ.)]

16. Gangwar A., Sharma M., Singh K., Patyal A., Bhau-mik G., Bhargava K., Sethy N.K. Intermittent normobaric hypoxia facilitates high altitude acclimatization by curtail-

ing hypoxia-induced inflammation and dyslipidemia. *Eur. J. Physiol.* 2019; 471 (7): 949–959. DOI: 10.1007/s00424-019-02273-4.

17. Mylonis I., Simos G., Paraskeva E. Hypoxia-inducible factors and the regulation of lipid *Metab. Cells.* 2019; 8 (3): 214–240. DOI: 10.3390/cells8030214.

18. Hou Y., Wang X., Chen X., Zhang J., Ai X., Liang Y., Yu Y., Zhang Y., Meng X., Kuang T., Hu Y. Establishment and evaluation of a simulated high-altitude hypoxic brain injury model in SD rats. *Mol. Med. Rep.* 2019; 19: 2758–2766. DOI: 10.3892/mmr.2019.9939.

19. Bong S.M., Moon J.H., Nam K.H., Lee K.S., Chi Y.M., Hwang K.Y. Structural studies of human brain-type creatine kinase complexed with the ADP-Mg²⁺-NO₃ — creatine transition-state analogue complex. *FEBS lett.* 2008; 582 (28): 3959–3965. DOI: 10.1016/j.febslet.2008.10.039.

20. Сёмина И.Г., Сёмина И.И., Азанчеев Н.М., Шилоvская Е.В., Тарасова Р.И., Павлов В.А., Ильясов А.В., Федотов В.Д. К вопросу и мембранных механизмах действия ноотропных препаратов. *Биол. мембр.* 2001; 18 (5): 363–369. [Semina I.G., Semina I.I., Azancheev N.M., Shilovskaya E.V., Tarasova R.I., Pavlov V.A., Ilyasov A.V., Fedotov V.D. On the issue and membrane mechanisms of action of nootropic drugs. *Biol. Membr.* 2001; 18 (5): 363–369. (In Russ.)]

21. Li Y., Zhang Y., Zhang Y. Research advances in pathogenesis and prophylactic measures of acute high altitude illness. *Resp. Med.* 2018; 145: 145–152. DOI: 10.1016/j.rmed.2018.11.004.

22. Singh A., Kukreti R., Saso L., Kukreti S. Oxidative stress: a key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules.* 2019; 24 (8): 1583–1603. DOI: 10.3390/molecules24081583.

23. Востриков В.В. Место пирacetамa в современной клинической практике. *Обзор. клин. фарм. лек. therap.* 2017; 15 (1): 14–25. [Vostrikov V.V. Place of piracetam in the modern practice of medicine. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*. 2017; 15 (1): 14–25. (In Russ.)] DOI: 10.17816/RCF15114-25.