

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АМТИЗОЛА В ПРОФИЛАКТИКЕ ГРАВИТАЦИОННОГО СТРЕССА



Иорданишвили Андрей Константинович^{1,2}

1 - Международная академия наук экологии безопасности человека и природы,
Российская Федерация, г. Санкт-Петербург;

2 - Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,
Российская Федерация, г. Санкт-Петербург

ГРАВИТАЦИОН СТРЕССНИНГ ПРОФИЛАКТИКАСИДА АМТИЗОЛНИНГ САМАРАСИНИ БАҲОЛАШ

Иорданишвили Андрей Константинович^{1,2}

1 - Экология, инсон ва табиат хавфсизлиги фанлари халқаро академияси,
Россия Федерацияси, Санкт-Петербург ш.;

2 – И.И. Мечников номидаги Шимолий –Фарбий давлат тиббиёт университети,
Россия Федерацияси, Санкт-Петербург ш.

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF AMTISOL IN THE PREVENTION OF GRAVITATIONAL STRESS

Iordanoshvilli Andrey Konstantinovich^{1,2}

1 - International Academy of Sciences of Ecology, Human Security and Nature MANEB,
Russian Federation, St. Petersburg;

2 - North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Russian Federation, St. Petersburg

e-mail: professoraki@mail.ru

Резюме. Долзарблиги: Сурункали 'кстремал таъсирда гипоксиянинг ҳужайра механизмларини тушунишнинг чуқурлашиши муносабати билан, шунингдек, фармакологиянинг янги самарали антигипоксантларни яратишидаги муваффақияти туфайли, экспериментда улардан сурункали гипергравитация таъсирдан келиб чиққан адаптацион синдромда фойдаланиши самарадорлигини оптималлаштириши учун фойдаланиши имкониятларини ўрганиши муҳим ҳисобланади. Мақсад – экспериментда сурункали гипергравитация таъсирдан келиб чиққан мослашиши синдромини фармакологик оптималлаштириши учун референт антигипоксант Амтизолнинг таъсирини баҳолаш. Материаллар ва методлар: Қиёсий анъанавий лаборатория, биокимёвий ва иммунологик тадқиқотлар б5 та лаборатория еркак каламушларида ўтказилди, улар тажрибалар сериясига қўйидагича тақсимланди: 1 серия - интакт каламушлар (15 та ҳайвон); 2 серия - гипергравитациянинг сурункали таъсири (15 та ҳайвон); 3-серия - амтизолни олдиндан юбориши билан гипергравитациянинг сурункали таъсири (20 та ҳайвон); 4-серия - плацебо билан олдиндан даволаш билан гипергравитациянинг сурункали таъсири (15 та ҳайвон). Натижалар: Сурункали гипергравитациявий таъсир остида стрессга мослашиши реакциялари ривожланиши аниқланди, бу еса профилактика чораларига еҳтиёжни патогенетик жиҳатдан оқлайди. Синовдан ўтган антигипоксант Амтизолдан фойдаланиши сурункали гравитациявий таъсирнинг стресс таъсирдан сезиларли даражада ҳимоя таъсирига ега. Шу билан бирга, препарат тананинг биокимёвий ва иммунологик ҳимоя реакцияларига таъсир қилишининг мураккаблиги ва кўп қирралилигини кўрсатди. Хулоса. Сурункали гравитацион стрессда Амтизолнинг ҳимоя таъсирини ҳисобга олган ҳолда, ўз касбий вазифаларини бажариши жараёнида сурункали гравитацион ортиқча юкга дучор бўлган шахслар учун Амтизолнинг клиник синовини ўтказиши, шунингдек, актопротекторлардан фойдаланиши бўйича экспериментал тадқиқотларни давом еттириши тавсия этилади, шунингдек, сурункали гравитациявий стресс билан терапевтик ва профилактик фойдаланиши мақсадида уларнинг антигипоксантлар билан бирикмалари.

Калит сўзлар: гравитацион стресс, сурункали гипергравитация, гипоксия, адаптацион синдром, антигипоксантлар, адаптацион синдромнинг фармакооптимизацияси.

Abstract. Relevance: Due to the deepening of ideas about the cellular mechanisms of hypoxia in chronic extreme exposures, as well as due to the success of pharmacology in the creation of new effective antihypoxants, it seems important

to study experimentally the possibility of their use to optimize the adaptation syndrome caused by the effects of chronic hypergravity. Purpose - is to evaluate experimentally the effect of the reference antihypoxant Amtisol for pharmacological optimization of the adaptation syndrome caused by the effects of chronic hypergravity. Material and methods: comparative conventional laboratory, biochemical and immunological studies were carried out in 65 male laboratory rats, which were distributed over a series of experiments as follows: 1 series – intact rats (15 animals); 2 series – chronic exposure to hypergravity (15 animals); 3 series – chronic exposure to hypergravity with preliminary administration of amtisol (20 animals); 4 series – chronic exposure to hypergravity with preliminary placebo management (15 animals). Results: it was found that with chronic hypergravity exposure, stress adaptive reactions develop, which pathogenetically justifies the need for preventive protective measures. The use of the tested antihypoxant Amtisol significantly has a protective effect against the stressful effects of chronic gravity exposure. At the same time, the drug showed the complexity and versatility of its action on the biochemical and immunological protective reactions of the body. Conclusion: taking into account the protective effect of Amtisol in chronic gravitational stress, it is advisable to conduct clinical testing of Amtisol for persons exposed to chronic gravitational overload during the performance of their professional duties, as well as to continue experimental studies on the use of actoprotectors, as well as their combinations with antihypoxants for the purpose of their therapeutic and preventive use in chronic gravitational stress.

Key words: gravitational stress, chronic hypergravity, hypoxia, adaptation syndrome, antihypoxant, pharmacooptimization of adaptation syndrome.

Актуальность. В развитии военной авиационной техники в настоящее время наблюдается исключительно быстрый прогресс. Появляются новые типы самолетов-истребителей, обладают высокой энерговооруженностью, а также большими скоростями, маневренностью, "высоким потолком" [1], что создает предпосылки развития гравитационного стресса [2, 3]. В связи с углублением представлений о клеточных механизмах гипоксии при хронических экстремальных воздействиях, а также благодаря успехам фармакологии в создании новых эффективных антигипоксантов представляется интересным и практически значимым изучить в эксперименте возможность их применения для оптимизации адаптационного синдрома, вызванного воздействием хронической гипергравитации.

Цель работы – оценить в эксперименте влияние эталонного антигипоксанта Амтизола для фармакологической оптимизации адаптационного синдрома, обусловленного воздействием хронической гипергравитации.

Материал и методы. Всего в эксперименте использовали 65 клинически здоровых белых крыс-самцов линии "Вистар" в возрасте от 8 до 34 недель, которые составили 4 серии исследования (рис. 1): 1 серия – intactные крысы (15 животных); 2 серия – хроническое воздействие гипергравитации (15 животных); 3 серия – хроническое воздействие гипергравитации с предварительным ведением амтизола (20 животных); 4 серия – хроническое воздействие гипергравитации с предварительным ведением плацебо (15 животных). В 3 группе 20 животным перед каждым воздействием гипергравитации вводили внутривентриально фармакологический препарат антигипоксанта Амтизол, из расчета в дозе 25 мг/кг, с целью изучения влияния этого средства на повышение устойчивости организма животного к воздействию хронической гипергравитации, а в качестве плацебо – предварительно вводили 0,9% раствор хлорида натрия (4 группа).

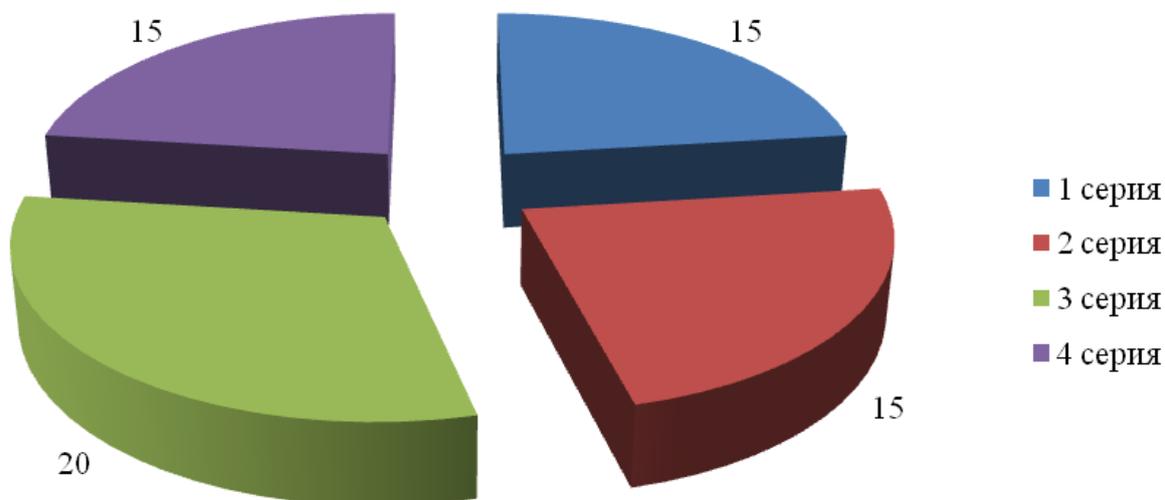


Рис. 1. Распределение животных по сериям экспериментов и их содержание: 1 серия – intactные крысы; 2 серия – хроническое воздействие гипергравитации; 3 серия – хроническое воздействие гипергравитации с предварительным ведением амтизола; 4 серия – хроническое воздействие гипергравитации с предварительным ведением плацебо, (n).

Гравитационные перегрузки моделировали по методике П. С. Пашенко [4], которая выбрана нами исходя из того, что она моделирует по своим параметрам именно те воздействия, которым подвергается организм человека на современных сверхзвуковых самолетах и, следовательно, наиболее приближена к действительной работе военных летчиков-истребителей. Гравитационное воздействие на лабораторное животное в кранио-каудальном направлении осуществлялось на центрифуге с длиной плеча (радиус вращения) 1,5 метра. График действия перегрузок, разработанный П.С. Пашенко, включал 11 следующих друг за другом "площадок" различной продолжительности: от 3 до 60 секунд. Величина перегрузки колебалась от 4 до 6 ед., градиент нарастания и спада - порядка 0,4-0,6 ед/с. Между третьей, четвертой, пятой, шестой, седьмой и восьмой "площадками" предусматривались остановки центрифуги на 10 секунд. В день эксперимента (первый, второй и четвертый день недели) вращали животных по графику. Выполняли трехкратное вращение с двумя перерывами по 20 минут каждый, что соответствует организации летной работы при трех полетах в смену. К моменту окончания эксперимента время воздействия составило 40 час. 18 мин.

Питание и условия содержания животных всех групп не отличались. По завершении эксперимента животные, спустя 14 суток после последнего экстремального воздействия, выводились из опыта парами эфира, а затем производили забор материала для общепринятых лабораторных, биохимических и иммунологических исследований.

Выполненное исследование полностью соответствовало этическим стандартам и проводилось в соответствии с действующими правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных и получило одобрение этического комитета Международной академии наук экологии, безопасности человека и природы (протокол № 2 от 12.05.2021 г.).

Достоверность различий средних величин независимых выборок подвергали оценке при помощи параметрического критерия Стьюдента при нормальном законе распределения и непараметрического критерия Манна-Уитни при отличии от нормального распределения показателей. Проверку на нормальность распределения оценивали при помощи критерия Шапиро-Уилкса. Для статистического сравнения долей с оценкой достоверности различий применяли критерий Пирсона χ^2 с учетом поправки Мантеля-Хэнзеля на правдоподобие. Во всех процедурах статистического анализа считали достигнутый уровень значимости (p), критический уровень значимости при этом был равным 0,05.

Результаты исследования. Результаты исследования показали, что при всех проведенных экспериментах их результаты во 2 и 4 группе лабораторных животных достоверно не различались ($p \geq 0,05$), поэтому при дальнейшем описании результатов данные, полученные в 4 группе животных, получавших плацебо, не представляются, так как они не отличались от показателями, полученных у 2 группы животных.

Учитывая, что кровь является важнейшей жидкой внутренней средой организма, выполняет многообразные физиологические функции, а также участвует в стабилизации важнейших констант организма и обеспечивает постоянство внутренней среды, при выполнении эксперимента нами исследован показатель качественного состава лейкоцитов периферической крови, некоторые основные биохимические, клинические показатели и ферменты крови, в том числе энтропию лейкоцитарной формулы крови (ЭЛФК), являющуюся интегральным показателем качественного состава лейкоцитов периферической крови, эффективно используемый при диагностике преднозологических состояний, которую определяли по формуле К.Э. Шеннона [5]:

$$H = -\sum_{i=1}^n (a_i/100) \log_2(a_i/100),$$

где H – ЭЛФК (в отн. ед.); i – 1, 2, ..., 6 - число популяций лимфоцитов в лейкограмме (палочкоядерные, сегментоядерные нейтрофилы, лимфоциты и т.д.), a_i – процентное содержание i -й группы лейкоцитов в лейкограмме. Нормальной лейкоцитарной формуле у крыс соответствует диапазон ЭЛФК от 0,51 до 0,67. Эффективное использование ЭЛФК показано при диагностике преднозологических состояний.

Установлено, что при хронических гравитационных воздействиях в лейкоцитарной формуле у опытных животных (2 и 3 серии) не отмечено достоверных различий по сравнению с лабораторными животными 1 серии, то есть группой интактных животных (табл. 1).

Однако такие различия появились в группе животных, получавших антиоксидант Амтизол. Для того чтобы охарактеризовать направленность возникших изменений (альтерация или компенсация) нами определена энтропия лейкоцитарной формулы, позволяющая оценить адаптационные резервы и уравновешенность метаболических процессов. Известно, что на повреждение в тканях особенно реагирует кровь, в которой имеется несколько плазменно-клеточных систем. Полисистемная реакция крови известна под названием гематологического стресс-синдрома, который определяется как гематологический ответ на тканевую недостаточность различной природы.

Таблица 1. Лейкоцитарная формула у крыс при гравитационных воздействиях и под защитой антигипоксантов, актопротекторов и их комбинаций ($X \pm m$)

Показатели %	Интактные животные (1 серия)	Гравитация (2 серия)	Гравитация + амтизол (3 серия)
палочкоядерные нейтрофилы	1,5 ± 0,22	1,17 ± 0,17	1,17 ± 0,17
сегментоядерные нейтрофилы	25,5 ± 1,34	24,0 ± 3,41	39,17 ± 2,68***
лимфоциты	66,67 ± 1,5	66,17 ± 2,33	54,00 ± 3,12***
моноциты	1,67 ± 0,21	2,17 ± 0,48	2,00 ± 0,37
эозинофилы	4,67 ± 0,67	4,50 ± 0,76	3,67 ± 0,88
ЭЛФК, усл. ед.	0,53 ± 0,02	0,42 ± 0,03*	0,53 ± 0,03**

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с группой интактных животных (норма); ** $p < 0,05$ при сравнении данных 3 серии с показателями после воздействия гравитации.

Таблица 2. Клинико-лабораторные показатели функции печени у крыс при гравитационных воздействиях и под защитой антигипоксанта, ($X \pm m$)

Показатели %	Интактные животные (1 серия)	Гравитация (2 серия)	Гравитация + амтизол (3 серия)
Общий билирубин, ммоль/л	14,45 ± 0,41	14,58 ± 0,17	12,63 ± 0,17**
АлАТ ммоль /л /ч	8,50 ± 1,88	97,33 ± 1,73*	57,33 ± 0,67**
АсАТ ммоль /л/ч	272,67 ± 3,13	215,83 ± 4,14*	265,67 ± 3,01*
ГТП ммоль /л /ч	389,17 ± 7,57	216,17 ± 1,90*	249,33 ± 5,95**
Глюкоза, ммоль /л	8,60 ± 0,16	7,03 ± 0,26*	7,17 ± 0,076*

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с группой интактных животных (норма)

** $p < 0,05$ при сравнении данных 3 серии с показателями после воздействия гравитации.

Note: * $p < 0,05$ compared to the group of intact animals (norm)

** $p < 0,05$ when comparing the data of the 3 series with the indicators after exposure to gravity.

Таблица 3. Показатели белкового обмена у крыс при гравитационных воздействиях и под защитой антигипоксанта, ($X \pm m$)

Показатели	Интактные животные (1 серия)	Гравитация (2 серия)	Гравитация + амтизол (3 серия)
Общ. белок, г/л	79,82 ± 0,41	69,32 ± 2,88*	79,05 ± 0,44*
Мочевина, моль /л	4,73 ± 0,067	4,52 ± 0,16	4,18 ± 0,18
Креатинин, мкмоль/л	82,55 ± 1,73	65,78 ± 1,79*	92,55 ± 1,19***
Альбумин, %	53,97 ± 0,37	43,32 ± 0,24*	44,82 ± 0,11
Глобулин, %	36,48 ± 0,42	38,97 ± 1,44	39,62 ± 2,36
Альб./Глоб.	1,19 ± 0,02	0,80 ± 0,45	0,95 ± 0,71
α -глобулин, %	3,62 ± 0,16	4,12 ± 0,12	4,50 ± 0,18*
α_2 -глобулин, %	7,27 ± 1,38	6,23 ± 0,10*	8,58 ± 0,29**
β -глобулин, %	24,40 ± 1,05	28,57 ± 0,64	25,67 ± 0,64**
γ -глобулин, %	10,70 ± 0,18	17,23 ± 0,94*	16,43 ± 0,50*

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с группой интактных животных (норма); ** $p < 0,05$ при сравнении данных 3 серии с показателями после воздействия гравитации.

Note: * $p < 0,05$ compared to the group of intact animals (norm); ** $p < 0,05$ when comparing the data of the 3 series with the indicators after exposure to gravity.

Представления об общем адаптационном синдроме в значительной мере связаны с оценкой количественно-качественных изменений лейкоцитарной формулы периферической крови [6].

Проведенный нами анализ изменений адаптационных реакций организма продемонстрировал, что в группе животных, подвергнутых хро-

ническим гравитационным воздействиям энтропия лейкоцитарной формулы достоверно уменьшилась по сравнению с интактными животными. Такое снижение энтропии свидетельствует о возрастании взаимосвязей внутри системы крови (в частности, между количеством клеток белой крови) и является показателем значительного адапта-

ционного напряжения [6]. Таким образом, отсутствие достоверных изменений численности различных лейкоцитов в этой группе при достоверном снижении энтропии лейкоцитарной формулы должно быть оценено как неблагоприятное. В группе животных, получавших фармакологическую поддержку, выявлены значительные изменения численности лейкоцитов различных популяций, как по сравнению с группой интактных животных, так и с группой животных, подвергнутых хроническим гравитационным воздействиям. Достоверность таких изменений четко показана в группе животных, получавших амтизол (табл. 1). Перечисленные изменения сопровождались возрастанием энтропии лейкоцитарной формулы до величины, характерной для интактных животных. Эти данные свидетельствуют, что отмеченные изменения лейкоцитарной формулы носили компенсаторный характер. Таким образом, можно заключить, что применение антиоксиданта амтизол повышало адаптационные резервы и реактивность организма. Высокая информативность ЭЛФК в контроле состояния организма, подвергающегося гравитационной перегрузке получила подтверждение в эксперименте на животных, что позволяет сделать вывод об общебиологической закономерности изменения взаимосвязей клеток крови при гравитационном стрессе. Следовательно, проведение профилактических стресс-протективных мероприятий в виде назначения антиоксидантов, патогенетически обосновано.

Известно, что защита чистоты внутренней среды организма осуществляется комплексом функционально взаимодействующих барьерных систем. Иммунная система осуществляет реакции детоксикации в тесном единстве с печенью. Так, в процессе защиты организма от чужеродных химических соединений возникают сопряженные ответные реакции двух типов: индукция синтеза микросомальных монооксигеназ в печени и индукция синтеза специфических антител. Установлены реципрокные взаимоотношения иммунной системы и ферментных механизмов биотрансформационной активности печени. На фоне структурных повреждений паренхимы печени и ее функциональной недостаточности активность микросомальных ферментов гепатоцитов снижается, что ведет к снижению клиренса поступающих в организм чужеродных веществ, неполному обезвреживанию эндогенных продуктов метаболизма. Неспецифически нарушения функции печени приводят к появлению отчетливых взаимосвязей с показателями иммунной системы (корреляции АлАТ и ЦИК, 1дС, билирубин - ЦИК) [7, 8].

Показано, что билирубин повышает активность фагоцитоза, стимулируя систему микротрубочек макро- и микрофагов. Незавершенный метаболизм белковых структур и других химических соединений мо-

жет вести к развитию интоксикации, иммунных и аллергических реакций. Наличие патогенетической связи между нарушениями функционального состояния иммунной системы и печени позволили сформировать представление о функциональном единстве основных механизмов иммунологического и метаболического гомеостаза [9].

Показатели функциональной активности печени в группах изученных животных представлены в таблице 2. Полученные результаты свидетельствуют, что при хроническом гравитационном воздействии значительно изменялась активность ферментов (АлАТ, АсАТ и ГГТП) по сравнению с данными интактной группы животных. У интактных животных отмечалась выраженная взаимосвязь между активностью ферментов (корреляции АлАТ – АсАТ – $r=0,813 \pm 0,049$; ГГТП – АлАТ – $r=0,926 \pm 0,001$; и ГГТП – АсАТ – $r=0,970 \pm 0,001$). При хроническом гравитационном воздействии вышеперечисленные взаимосвязи не проявлялись, но возникли корреляционные связи между активностью ферментов и иммунными параметрами (корреляции АлАТ – 1дб – $r=-0,937 \pm 0,006$; и АлАТ – 1дА – $r=0,811 \pm 0,050$). Отмеченное в таблице 2 снижение уровня глюкозы при хроническом гравитационном воздействии, можно связать с изменением функциональной активности клеток печени, так как известно, что гипоксия приводит к активации анаэробного гликолиза, в результате чего происходит истощение запасов гликогена в гепатоцитах и снижение сывороточного уровня глюкозы [7, 8].

При анализе изменений показателей функциональной активности печени в группе животных, подвергнутых воздействию гравитации под защитой антигипоксанта (3 серия), выявлен ряд существенных различий по сравнению с животными, не получавшими фармакологических препаратов (2 и 4 серия). Так, прием амтизола сопровождался повышением активности всех изученных ферментов с достоверной тенденцией к нормализации, но уровень глюкозы был достоверно ниже, чем у интактных животных.

При изучении показателей белкового обмена у крыс установлено, что хроническое гравитационное воздействие приводит к снижению содержания общего белка в крови (табл. 3), что свидетельствует о преобладании катаболических процессов над анаболическими. В основном гипопроteinемия обусловлена снижением содержания быстро обновляющихся (период полураспада 3–7 дней) альбуминов. Гипопроteinемия развивается в меньшей степени при профилактическом приеме амтизола. Хотя содержание альфа-1-глобулинов в крови животных 4 серии не отличается от базовых величин, амтизол способствует повышению содержания альфа-1-глобулинов, основную составляющую которых представляют ингибиторы протеолитических

ферментов. Фракция альфа-2-глобулинов, в которую наряду с ингибиторами протеаз входят гаптоглобины и ингибитор интерлейкина-1 – альфа-2-макроглобулин под действием гравитации существенно убывает, а применение амтизола приводит даже к увеличению уровня альфа-2-глобулинов в периферической крови (табл. 3). Абсолютное содержание бета-глобулинов достаточно стабильно как при изолированном действии гравитации, так и при применении антигипоксанта. Увеличение процентного содержания этих белков обусловлено гипоальбуминемией.

Мочевина представляет собой главный конечный продукт катаболизма белков (точнее - аминокислот) у организмов уротелического типа обмена, к которым относятся тестируемые животные и человек. Главным, если не единственным, местом синтеза мочевины является печень. На синтез мочевины идет наибольшее количество аммиака, являющегося высокотоксичным соединением. Под действием гравитации содержание мочевины у исследуемых животных не изменялось. Существенное снижение уровня мочевины в крови при использовании амтизола не наблюдали. Очевидно, его применение не повлияло на повышение экскреторной функции почек.

Креатинин также является конечным продуктом азотистого обмена. Он образуется в мышечной ткани в результате необратимой реакции дефосфорилирования фосфокреатина, исполняющего роль депо легкоомобилизуемых фосфатных групп и транспортной формы макроэргических фосфатных связей, образующихся в процессе тканевого дыхания и связанного с ним окислительного фосфорилирования. Наблюдаемое нами снижение содержания креатинина под действием гравитации (табл. 3) может быть обусловлено уменьшением синтеза креатина и креатинфосфата. Этот процесс нормализуется при применении амтизола.

Таким образом, применение тестируемого антигипоксанта Амтизола оказывало протективное действие в отношении стрессорных эффектов хронического гравитационного воздействия. При этом препарат проявил комплексность и многосторонность действия на типовые патобиохимические процессы (дисбаланс активности прооксидантных и антиоксидантных метаболических систем, нарушение соотношения активности протеолитических ферментов и их ингибиторов, неадекватная стимуляция прооксидантно-индуцированного протеолиза, нарушения соотношения внутриклеточных концентраций циклического АМФ и циклического ГМФ, интенсивности гликолиза и цикла трикарбоновых кислот, митохондриального окисления и фосфорилирования и т.д.).

Важнейшими ионами, характеризующими состояние минерального обмена, являются Ca^{2+} и P^{3+} . Кальций участвует в осуществлении многих клеточных процессов: функционировании мембран всех органелл клетки, процессах окислительного фосфорилирования, регулирует деление клеток [10]. В последние годы показано, что ионы кальция играют важную роль в антиоксидантной защите клеток путем регуляции активности реакций апоптоза [3]. Известно, что концентрации ионов кальция и фосфора в сыворотке крови определяет его концентрацию в слюне. Длительное снижение уровня ионизированного кальция и коэффициента Ca/P в секрете слюнных желез приводит к электролитному дисбалансу, следствием которого является кариес и некариозные поражения твердых тканей зубов. Про ведение патогенетической терапии, приводящей к нормализации уровня кальция в плазме крови, одновременно увеличивает содержания кальция в слюне [10].

Проведенные исследования (табл. 4) свидетельствуют, что при гравитационном воздействии имеется тенденция к снижению концентрации кальция в сыворотке крови, достоверно снижается концентрация иона фосфора, что сопровождается некоторым увеличением (хотя и не достоверным) соотношения Ca/P . Учитывая, что концентрация ионизированного кальция в плазме (сыворотке) крови является одной из важнейших физиологических констант, незначительная выраженность выявленных изменений не свидетельствует об их малом значении для организма.

При использовании всех антиоксидантного препарата, включенного в настоящее исследование (3 серия), наблюдалось достоверное увеличение концентрации иона P^{3+} по сравнению с группой животных, подвергнутых гравитационному воздействию без фармакологической защиты (2 серия). Такое повышение концентрации иона P^{2+} может быть расценено как проявление компенсаторных защитных реакций, так как известно что длительное уменьшение концентрации неорганического P^{2+} ассоциировано с высокой интенсивностью кариеса. Достоверное более высокое содержание иона Ca^{2+} в сыворотке крови наблюдали в группах животных, испытывавших гравитационные воздействия под защитой амтизола, по сравнению с группой животных, не получавших фармакологической поддержки.

Известно, что оптимальное соотношение Ca/P в плазме крови у здоровых животных составляет от 1,37 до 1,77 [11].

Выход этого параметра за пределы указанных колебаний приводит к нарушению минерализации костной ткани. Снижение соотношения Ca/P в настоящем исследовании наблюдали в группах животных, подвергавшихся гравитационному воздействию без фармакологической защиты (2 и 4 серии).

Таблица 4. Показатели минерального обмена у крыс при гравитационных воздействиях и под защитой антигипоксанта, ($X \pm m$)

Показатели	Интактные животные (1 серия)	Гравитация (2 серия)	Гравитация + амтизол (3 серия)
Ca ²⁺	2,20±0,05	2,10±0,03	2,37±0,07*
P ³⁺	1,45±0,03	1,30±0,04*	1,47±0,02*
Ca/P	1,52±0,043	1,62±0,032	1,61±0,044

Примечание: *p<0,05 по сравнению с группой интактных животных (норма); **p<0,05 при сравнении данных 3 серии с показателями после воздействия гравитации.

Note: *p<0.05 compared to the group of intact animals (norm); **p<0.05 when comparing the data of the 3 series with the indicators after exposure to gravity.

Таблица 5. Показатели неспецифической резистентности у крыс при гравитационных воздействиях и под защитой антигипоксанта, ($X \pm m$)

Показатели	Интактные животные (1 серия)	Гравитация (2 серия)	Гравитация + амтизол (3 серия)
НСТ- тест (базальн.) усл.ед.	0,095±0,01	0,06±0,02*	0,04±0,03 *
НСТ-тест (стимулир.) усл.ед.	0,97±0,026	0,60±0,10*	0,55±0,11 *
ЛКТ-тест, усл. ед.	1,18±0,15	1,46±0,095*	1,67±0,049 ***
ЦИК, усл.ед.	20,17±1,08	59,00±4,62*	42,68±5,02**
Ig M, г/л	0,36±0,01	0,88±0,02*	0,37±0,02**
Ig G, г/л	0,96±0,03	0,96±10,03	0,40±0,03***
Ig A, г/л	0,42±0,02	0,77±0,06*	0,21±0,04***

Примечание: * p<0,05 по сравнению с группой интактных животных (норма); ** p<0,05 при сравнении данных 3 серии с показателями после воздействия гравитации.

Note: * p<0.05 compared to the group of intact animals (norm); ** p<0.05 when comparing the data of the 3 series with the indicators after exposure to gravity.

Выявленные нами значительные нарушения свороточной концентрации кальция и соотношения Ca/P у животных получавших Амтизол, свидетельствует о недостаточном протекторном действии этого средства на состояние минерального обмена при хроническом гравитационном воздействии.

Для целостного представления о протективном воздействии Амтизола при хронических гравитационных перегрузках были также изучены некоторые показатели неспецифической резистентности организма, которая обуславливается клеточными и гуморальными физиологическими защитными реакциями, направленными на сохранение постоянства состава внутренней среды и восстановление нарушенных функций макроорганизма.

Известно, что основными методами исследования активности фагоцитирующих клеток являются: тест восстановления нитросинего тетразолия – НСТ–тест, позволяющий оценить кислородзависимую антимикробную систему фагоцитов. При воздействии микроорганизмов (или продуктов бактериальной оболочки, в частности зимозана) на фагоцитирующие клетки инициируются биохимические реакции так называемого "дыхательного взрыва", при котором потребление кислорода клеткой усиливается в 7–15 раз. В результате этих реак-

ций синтезируется перекись водорода и синглетный кислород (O_2^-), обладающие выраженной бактерицидностью. Интактная мембрана лейкоцитов непроницаема для НОТ. При фагоцитозе происходит поглощение комплексов НСТ–гепарин–фибриноген, перенос его в фагосому и цитоплазму фагоцитов, где и происходит восстановление НОТ в формазан. В восстановлении НОТ принимают участие мембранные оксидазы, которые катализируют перенос электронов с восстановленной формы НАДФ на молекулярный кислород [12]. В восстановлении НОТ принимают участие и дегидрогеназы гликолиза и гексомонофосфатного шунта, которые обеспечивают диффузную голубую окраску и маленькие голубые гранулы в цитоплазме клеток, тогда как в фагосомах формазан выявляется в виде крупных темно-синих гранул. Дефекты в системе образования супероксидных гидроксильных радикалов и перекиси водорода лежат в основе незавершенного фагоцитоза [7, 8]. Следовательно, образование формазана в фагосомах характеризует интенсивность поглощения частиц и выработку активных радикалов. Таким образом, НСТ–тест является интегральным, позволяющим оценить как фагоцитарную, так и метаболическую активность клеток.

Лизосомально-катионный тест (ЛКТ), характеризующий степень активности кислороднезависимых микробицидных систем фагоцита. Принцип

метода основан на цитохимическом выявлении неферментных лизосомальных катионных белков, носительное содержание которых позволяет судить о представительстве вышеназванных антимикробных систем.

Приведенные в таблице 5 данные базального и стимулированного НОТ–теста свидетельствуют, что у животных, подвергнутых хроническому гравитационному воздействию наблюдалось к значительное и достоверное снижение кислородзависимой бактерицидности лейкоцитов по сравнению с группой интактных животных.

Известно, что при тканевой гипоксии угнетается генерация активных форм кислорода лейкоцитами [7, 8]. Применение амтизола не оказывало заметного протективного действия. Интересно, что кислород-независимая бактерицидность возрастала как при хроническом гравитационном воздействии, так и при использовании антигипоксанта. В группе животных, подвергнутых хронической гравитации (2 и 4 серии), появились выраженные корреляционные связи (отсутствующие в группе интактных животных) между активностью в ЛКТ–тесте и базальным НСТ ($r = 0,81 \pm 0,04$; $p < 0,05$), а также стимулированным НСТ–тестом ($r = 0,93 \pm 0,01$; $p < 0,001$). В некоторой степени показатели ЛКТ–теста возросли в группе животных, получавших Амтизол (3 серия). Учитывая, что при использовании этого средства не удалось полностью восстановить НСТ–стимулированную активность фагоцитов, такое повышение активности лизосомальных ферментов можно считать компенсаторным.

Ключевая роль в поддержании иммунного гомеостаза принадлежит ЦИК и сывороточным иммуноглобулинам, которые регулируют активность широкого спектра иммунокомпетентных клеток (макрофагов, гранулоцитарных лейкоцитов, лимфоцитов и тромбоцитов). Фагоциты обеспечивают клиренс ЦИК, с чем связано в значительной степени их участие в процессах иммунорегуляции. Известно, что значительное повышение уровня ЦИК приводит к развитию неспецифических супрессорных реакций, что значительно снижает резистентность организма [9].

При воздействии хронической гравитации уровень ЦИК у животных 2 и 4 серий возрастал более чем в два раза по сравнению с интактными (табл. 5). Кроме того, выявлено, что в этих группах животных появляются сильная отрицательная коррелятивная связь между концентрацией ЦИК и базальной и стимулированной активностью лейкоцитов в НСТ–тесте ($r = -0,923 \pm 0,008$ и $r = -0,992 \pm 0,001$ соответственно). В группе интактных животных таких корреляций нет, напротив имеется положительная коррелятивная связь между активностью лейкоцитов в стимулированном НСТ–тесте и концентрацией сывороточных иммуноглобулинов (соответственно для

IgM $r = 0,851 \pm 0,003$; $p < 0,05$; для IgG $r = 0,880 \pm 0,002$; $p < 0,01$; и для IgA – $r = 0,843 \pm 0,033$; $p < 0,05$).

При использовании Амтизола концентрация ЦИК достоверно снижалась (табл. 5). Интересно отметить, что на фоне наблюдаемой нормализации уровня ЦИК в группе животных, защищенных антигипоксантом (3 серия), отрицательная коррелятивная связь между концентрацией ЦИК и активностью лейкоцитов в НСТ–тесте в основном не наблюдали.

Эффективность клиренса ЦИК в значительной степени определяется классом антител, формирующих иммунные комплексы. Так, способность активировать комплемент и влиять на активность фагоцитирующих клеток выражена у иммунных комплексов, сформированных иммуноглобулинами класса G, но подавляется иммуноглобулинами класса A [7, 8]. То есть существуют конкурентные взаимоотношения между иммуноглобулинами различных классов и соотношение последних может влиять на скорость элиминации ЦИК и возможность тканевых повреждений.

Представленные в таблице 5 данные свидетельствуют, что концентрация IgG не изменялась при хроническом гравитационном воздействии, а концентрация IgM и IgA достоверно возрастала. Такое возрастание уровня сывороточных Ig, особенно класса M, вероятно, отражает повышение антигенемии вследствие неспецифических тканевых повреждений. При применении исследуемого антигипоксанта Амтизола концентрация IgM заметно снижалась, причем достоверных различий по сравнению с группой здоровых животных не выявлено. Такой результат можно связать с уменьшением антигенной нагрузки вследствие эффективной защиты от тканевых повреждений у животных, получавших протективный антигипоксический фармакопрепарат.

Таким образом, при изучении показателей неспецифической резистентности выявлено, что хроническое гравитационное воздействие оказывает достоверное угнетающее действие на функциональное состояние фагоцитирующих клеток, обусловленное снижением кислородзависимой бактерицидности, дополнительно возрастает концентрация ЦИК и нарушается нормальное соотношение между иммуноглобулинами различных классов. Препарат Амтизол оказывал защитное (протективное) действие в отношении фагоцитирующих клеток, преимущественно за счет изменения баланса между кислородзависимой и кислород-независимой бактерицидностью. В этой же серии отмечена тенденция к нормализации концентрации ЦИК, а изменения содержания сывороточных иммуноглобулинов классов G, A и M соответствуют таковым при развитии адаптационных защитных реакций.

Заключение. Суммируя приведенные представленные в статье результаты экспериментальных клинко-лабораторных и иммунологических исследований, можно отметить, что при хроническом ги-

пергравитационном воздействии развиваются стрессорные адаптационные реакции, что патогенетически обосновывает необходимость проведения профилактических протективных мероприятий. Применение тестируемого антигипоксанта Амтизола достоверно оказывает протективное действие в отношении стрессорных эффектов хронического гравитационного воздействия. При этом препарат проявил комплексность и многосторонность действия на биохимические и иммунологические защитные реакции организма. Поэтому целесообразно провести клиническую апробацию Амтизола для лиц, подвергающихся в ходе выполнения своих профессиональных обязанностей хроническим гравитационным перегрузкам. В тоже время, учитывая тенденцию в мировой фармакотерапии к созданию многокомпонентных лекарственных средств, целесообразно продолжить экспериментальные исследования по изучению использования актопротекторов, а также их комбинаций с антигипоксантами с целью их лечебного и профилактического применения при хроническим гравитационном стрессе.

Литература:

1. Благинин А.А., Гребенюк А.Н., Лизогуб И.Н. Основные направления совершенствования медицинского обеспечения полетов авиации ВВС в современных условиях // Воен.-мед. журн. 2014. № 2. С. 42–44.
2. Пономаренко В.А., Ворона А.А. Предпосылки для развития профилактической авиационной медицины // Воен.-мед. журн. 2014. № 10. С. 55–56.
3. Иорданишвили А.К. Стоматологические заболевания у летного состава. СПб., 1996.
4. Пашенко П.С. Регуляторные системы организма в условиях гравитационного стресса (морфофункциональный аспект). СПб., 2007.
5. Шеннон К.Э. Математическая теория связи // Работы по теории информации и кибернетике / Под ред. Р.Л. Добрушина, О.Б. Лупанова. М.: ИЛ, 1963. С. 243–332.
6. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов-на-Дону: Изд-во Рост. ун-та, 1990. 224 с.
7. Гайворонский И.В., Курочкин В.А., Гайворонская В.В. и др. Жевательные мышцы: морфофункциональная характеристика и возрастные особенности в норме и при воздействии экстремальных факторов. СПб., 2011.
8. Гайворонский И.В., Лобейко В.В., Гайворонская В.В. и др. Околоушная железа: морфофункциональная характеристика в норме и при воздействии экстремальных факторов. СПб., 2011.
9. Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. Л.: Медицина, 1986. 279 с.
10. Григорьев А.И., Воложин А.И., Ступаков Г.П. Минеральный обмен у человека в условиях измененной гравитации. М.: Наука, 1994. 216 с.
11. Пихур О.л. Возрастные изменения состава и строения твердых тканей зуба. СПб.: Нордмедиздат, 2015. 154 с.
12. Манянский А.Н., манянский Д.Н. очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск: Наука, 1989. 344 с.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АМТИЗОЛА В ПРОФИЛАКТИКЕ ГРАВИТАЦИОННОГО СТРЕССА

Иорданишвили А.К.

Резюме. Актуальность: В связи с углублением представлений о клеточных механизмах гипоксии при хронических экстремальных воздействиях, а также благодаря успехам фармакологии в создании новых эффективных антигипоксантов представляется важным изучить в эксперименте возможность их применения для оптимизации адаптационного синдрома, вызванного воздействием хронической гипергравитации. Цель – оценить в эксперименте влияние эталонного антигипоксанта Амтизола для фармакологической оптимизации адаптационного синдрома, обусловленного воздействием хронической гипергравитации. Материал и методы: проведены сравнительные общепринятые лабораторные, биохимические и иммунологические исследования у 65 лабораторных крыс-самцов, которые распределялись по сериям экспериментов следующим образом: 1 серия – интактные крысы (15 животных); 2 серия – хроническое воздействие гипергравитации (15 животных); 3 серия – хроническое воздействие гипергравитации с предварительным ведением амтизола (20 животных); 4 серия – хроническое воздействие гипергравитации с предварительным ведением плацебо (15 животных). Результаты: установлено, что при хроническом гипергравитационном воздействии развиваются стрессорные адаптационные реакции, что патогенетически обосновывает необходимость проведения профилактических протективных мероприятий. Применение тестируемого антигипоксанта Амтизола достоверно оказывает протективное действие в отношении стрессорных эффектов хронического гравитационного воздействия. При этом препарат проявил комплексность и многосторонность действия на биохимические и иммунологические защитные реакции организма. Заключение: учитывая протективное действие Амтизола при хроническом гравитационном стрессе целесообразно провести клиническую апробацию Амтизола для лиц, подвергающихся в ходе выполнения своих профессиональных обязанностей хроническим гравитационным перегрузкам, а также продолжить экспериментальные исследования по изучению использования актопротекторов, а также их комбинаций с антигипоксантами с целью их лечебного и профилактического применения при хроническим гравитационном стрессе.

Ключевые слова: гравитационный стресс, хроническая гипергравитация, гипоксия, адаптационный синдром, антигипоксанта, фармакооптимизация адаптационного синдрома.