

## ИССЛЕДОВАНИЕ НОВОГО АНТИГИПОКСИЧЕСКОГО СРЕДСТВА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

Шевченко Л.И.<sup>1</sup>, Алимов Т.Р.<sup>1</sup>, Рахманбердиева Р.К.<sup>3</sup>, Азизова Д.Ш.<sup>3</sup>,  
Бойматов О.Ш.<sup>3</sup>, Хужахмедов Ж.Д.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии МЗ РУз,

<sup>2</sup>Молекулярно-генетическая лаборатория «GenoTechnology»,

<sup>3</sup>Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю.Юнусова АН РУз

### XULOSA

**Tadqiqotning maqsadi.** O'tkir gemik gipoksiya holatidagi kalamushlarda energiya yetishmovchiligining og'irligiga yangi antigipoksik vositaning ta'sirini o'rganish edi.

**Materiallar va tadqiqot usullari.** Yangi preparatning ta'siri albinos kalamushlarda o'tkir gemik gipoksiya modeli yordamida o'rganildi. Tajriba hayvonlarida quyidagi parametrlar aniqlandi: adenozintrifosfat (ATF) miqdori, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATFaza va glitseraldegid-3-fosfatdehidrogenaza (GAPDG) faolligi va eritrotsitlar glyukoza-6-fosfatdehidrogenazasi (G-6-FDG) faolligi.

**Natijalar.** Yangi antigipoksik vosita qo'llanilgandan so'ng, eritrotsitlardagi ATF miqdori tiklanadi. IV guruhda yangi preparat qo'llanilgandan so'ng, energiya almashinuvi faolligi tiklandi. II guruh bilan taqqoslaganda, IV guruhda ATF darajasi 2,1 baravar yuqori ( $p < 0,05$ ), Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATFaza esa 1,8 baravar yuqori ( $p < 0,05$ ), G-6-FDG 1,3 baravar yuqori ( $p < 0,05$ ) va GAPDG deyarli boshlang'ich darajaga yetdi.

**Xulosa.** Gemik gipoksiya energiya almashinuvida sezilarli o'zgarishlar bilan birga keladi, bu eritrotsitlarda ATF va Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATFaza darajasining pasayishi, antioksidant ferment G-6-FDGning aktivligini pasayishi, GAPDGning ingibirlanishi va qonda laktat to'planishi bilan tasdiqlanadi. Metabolik kompleksga ega yangi antigipoksik preparatni qo'llash gemik gipoksiya paytida energiya holatini va antioksidant himoyasini tikladi.

**Kalit so'zlar:** O'tkir gemik gipoksiya, energiya almashinuvi, ATF, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATFaza, GAPDG.

Одной из причин острых отравлений нитритом натрия может быть высокое содержание его в окружающей среде, так как он используется в фармации в виде лекарственных препаратов, пищевых добавок, консервантов и удобрений, что приводит нитритным интоксикациям, которые поражают все органы и ткани человека. Нитритная интоксикация способствует, в первую очередь развитию метгемоглобинемии, которая сопровождается острым дефицитом кислорода и нарушением метаболизма [8,9]. На этом фоне формируются сложные механизмы развития так называемой гемической гипоксии гипоксического состояния при метгемоглобинемии, которая сопровожда-

### SUMMARY

**Objective.** To study the effect of a new antihypoxic agent on the severity of energy impairment in rats with acute hemic hypoxia.

**Materials and methods of the study.** The effect of the new drug was studied using a model of acute hemic hypoxia in white mongrel rats. The following parameters were determined in the experimental animals: adenosine triphosphate (ATP) content, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) activity, and erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) activity.

**The results of the study.** After the use of a new antihypoxic agent, the ATP content in erythrocytes is restored. After using the new drug in group IV, there was a restoration of energy metabolism activity. Compared with Group II, in Group IV, the ATP level was 2.1 times higher ( $p < 0.05$ ), and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase was 1.8 times higher ( $p < 0.05$ ), G-6-PDH was 1.3 times higher ( $p < 0.05$ ), and GAPDH was almost to the initial level.

**Conclusions.** Hemic hypoxia is accompanied by significant changes in energy metabolism, as evidenced by decreased ATP in erythrocytes and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase levels, suppression of the antioxidant enzyme G-6-PDH, inhibition of GAPDH, and accumulation of lactate in the blood. The use of a new antihypoxic drug with a metabolic complex restored energy status and antioxidant defense during hemic hypoxia.

**Keywords:** Acute hemic hypoxia, energy metabolism, ATP, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, GAPDH.

ется развитием каскада патологических процессов. В связи с этим комплексная терапия при нитритной гипоксии помимо специфических средств должна включать препараты антигипоксического действия, оказывающие влияние на метаболические процессы в клетках [1,10,11]. Однако до сих пор этих веществ не достаточно на фармацевтическом рынке. К числу таких средств относятся разработанный нами новый препарат, содержащий синтетическое комплексное соединение метаболита (янтарной кислоты) и полисахарида растительного происхождения разработанного в Институте химии растительных веществ им. акад. С.Ю.Юнусова АН РУз [7]. Новый препарат об-

ладает широкими функциональными возможностями: мембранопротекторным, биостимулирующим, антигипоксическим, антиоксидантным и дезинтоксикационным действиями.

#### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение влияния нового антигипоксического средства на тяжесть энергетических нарушений у крыс при острой нитритной гипоксии.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальную острую гемическую гипоксию (НГ) воспроизводили у белых беспородных крыс ( $n=60$ ) однократным подкожным введением нитрита натрия (в области спины) введением 4% раствора нитрита натрия (НН) в дозировке 90 мг/кг массы тела животного. Выбор доз был обусловлен предварительным титрованием нитрита натрия, а также данными, опубликованными в работах [2,3,6]. В ходе эксперимента определяли концентрацию метгемоглобина (metHb) по общепринятой методике [2].

Было изучено влияние нового препарата на показатели энергетического обмена в основной группе и раствора янтарной кислоты на «физиологическом» растворе хлорида натрия в группе сравнения. Исследуемые препараты вводили крысам в дозе 5 мл/кг (содержание действующего вещества 50 мг/кг) массы тела в течение 5 дней [5].

Схема распределения животных по группам:

I группа – до введения нитрита натрия (интактные животные) ( $n=15$ );

II группа (контрольная) – острая гемическая гипоксия без лечения ( $n=12$ );

III группа (сравнения) – с применением инфузии раствора янтарной кислоты приготовленного на «физиологическом» растворе натрия хлорида (0,9% NaCl) после моделирования острой гемической гипоксии ( $n=16$ );

IV группа (основная, опытная) – с применением инфузии нового препарата после моделирования острой гемической гипоксии ( $n=17$ );

У подопытных животных определяли: содержание аденозинтрифосфата (АТФ), активность  $Na^+,K^+$ -АТФ-азы и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH) в эритроцитах методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов «Elabscience» (Китай). Измерения результатов иммуноферментного анализа производили при длинах волн при 450 и 630 нм на микропланшетном фотометре «MR96A» (Mindray, Китай).

Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) эритроцитов определяли по общепринятому методу [4]. Измерения проводили на спектрофотометре UNICO2800 (США).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с вычислением критерия Стьюдента. Статистически достоверными считали различия при значении  $p \leq 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты наших исследований показали, что острая нитритная интоксикация через 1,5 часа сопровождалась повышением уровня метгемоглобина – в 14,8 раза ( $p < 0,05$ ) (рис.) и развитием гемической гипоксии, а также существенными изменениями энергетического обмена, на что указывает снижение АТФ эритроцитов в 2,49 раза ( $p < 0,05$ ) (табл.). Наряду с определением уровня АТФ, было изучено состояние мембранных ферментных показателей, таких как  $Na^+/K^+ - АТФ$ аза в эритроцитах, значение которой во II группе было ниже в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ), относительно I группы. При гемической гипоксии наблюдалось угнетение фермента антиоксидантной защиты Г-6-ФДГ в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ).



Влияние нового препарата на показатели метгемоглобина при острой гипоксии.

Также происходило ингибирование активности GAPDH в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует о снижении жизнеспособности клеток при гемической гипоксии. Особое значение при гипоксии придается накоплению в крови лактата (от  $4,7 \pm 0,3$  до  $18,7 \pm 0,5$  ммоль/л), так как пируват не подвергается

декарбоксилированию, а происходит его восстановление в лактат и увеличение в 4,0 раза (табл.). Полученные результаты показывают, что при гемической гипоксии происходят серьезные нарушения энергетического обмена.

После применения нового препарата в IV группе происходило снижение уровня метгемоглобина в 7,0 раз ( $p < 0.05$ ). После применения нового антигипоксического средства происходит восстановление содержания АТФ в эритроцитах, происходило восстановление активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы и активности GAPDH практически до исходного уровня. Наличие в составе метаболического комплекса отразилось на

состоянии энергетического статуса в IV группе, по сравнению со II группой, что доказывает увеличение АТФ в 2,1 раза ( $p < 0.05$ ), активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы в 1,8 раза ( $p < 0.05$ ) при гемической гипоксии. По сравнению с III группой в IV группе уровень метгемоглобина был ниже на 42,4% ( $p < 0.05$ ), АТФ был на 9,2% ( $p < 0.05$ ), а  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы на 8,3% ( $p < 0.05$ ).

**Изменение содержания показателей энергетического обмена при острой гипоксии и после лечения (M±m)**

Исследуемые показатели	Исходные данные	Острая гипоксия	Лечение:	
			ЯК на 0,9% NaCl	новым препаратом
			I группа, (n=15)	II группа, (n=12)
АТФ, ммоль/л	0,97±0,03	0,39±0,03*	0,76±0,03*^	0,88±0,04^#
Г-6-ФДГ эр., МЕ/г Hb	13,9±0,5	10,7±0,4*	12,4±0,4*^	13,7±0,4^#
$\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-аза, мкмоль Pi /мл/ч	1,32±0,05	0,74±0,04*	1,21±0,03^	1,31±0,03^#
GAPDH, Ед/л	14,5±0,5	11,7±0,5*	13,6±0,4^	14,8±0,4^#
Лактат, ммоль/л	4,7±0,3	18,7±0,6*	6,1±0,4*^	4,8±0,3^#

*Примечание:* \* - достоверность ( $p < 0,05$ ) при сравнении с I группой (интактных животных); ^ - то же ( $p < 0,05$ ) при сравнении со II группой (контроля); # - то же ( $p < 0,05$ ) при сравнении с результатами лечения в III группе (ЯК на 0,9% NaCl).

При введении нового препарата восстанавливалась система антиоксидантной защиты. В IV группе, по сравнению со II группой, происходило восстановление активности Г-6-ФДГ в 1,3 раза ( $p < 0.05$ ), а по сравнению с III группой на 14,5% ( $p < 0.05$ ).

Следует также отметить, что после применения нового препарата содержание молочной кислоты в IV группе уменьшалось до исходного уровня, что иллюстрирует способность препарата способствовать коррекции метаболических нарушений при гипоксии.

**НАУЧНАЯ НОВИЗНА**

Впервые исследована эффективность действия нового препарата, обладающего антигипоксическим и антиоксидантным действием при острой нитритной гипоксии и оценена его способность корректировать энергетические показатели в эксперименте.

**ОБСУЖДЕНИЕ**

Таким образом, проведенные исследования доказали, что новый антигипоксический препарат приводит к существенному повышению энергопродуцирующей клеточной активности, увеличивает внутриклеточное накопление макроэргических соединений – АТФ и восстанавливает систему антиоксидантной защиты, устраняя гипоксию, вызванную нитритом натрия.

**ВЫВОДЫ:**

1. Острая гемическая гипоксия сопровождается существенными изменениями энергетического обмена, на что указывает снижение содержания АТФ в эритроцитах и уровня активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, наблюдалось угнетение активности фермента антиоксидантной защиты Г-6-ФДГ, происходило ингибирование активности GAPDH и накопление лактата в крови.

2. Применение нового антигипоксического препарата с метаболическим комплексом восстанавли-

вало состояние энергетического статуса и антиоксидантную защиту при острой гипоксии.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Волчегорский И.А. и др. Влияние производных 3-оксипиридина и янтарной кислоты на физическую работоспособность мышечной и их устойчивость к острой гипоксии различного генеза // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2019. – Т. 105. – №3. – С. 363-374.
2. Игбаев Р.К. Экспериментальная коррекция прооксидантно-антиоксидантного равновесия в условиях гипоксии и токсической метгемоглобинемии: дис ... канд. мед. наук ФГБОУ ВПО «Российский университет Дружбы народов» – Сочинский филиал РУДН. – 2006 – 1-165.
3. Иваницкая Н.Ф. Методика получения разных стадий гемической гипоксии у крыс введением нитрита натрия // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1976. – № 3 – С.69-71.
4. Касумова С.М. К количественной характеристике фермента Г-6-ФДГ в отдельных популяциях клеток периферической крови // Вестник службы крови России. – 2009. – №. 2. – С. 27-31.
5. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ: официал, изд. Фармакологического комитета РФ. – М.– 2005. – С. 1-829.
6. Срубилин Д.В. Влияние литиевой соли 5-окси-6-метилурацила на перекисное окисление липидов, активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  -АТФ-азы полушарий головного мозга при экспериментальной гипоксии / Д.В.Срубилин, Д.А.Еникеев, В.А.Мышкин, М.А.Исакова // Патофизиология и современная медицина: мат. второй междунар. конф., Москва 22-24 апр. – М. – 2004. – С.349-350.

7. Шевченко Л.И., Рахманбердиева Р.К., Алимов Т.Р., Исламов М.С., Хужахмедов Ж.Д., Бойматов О.Ш., Азизова Д.Ш. Средство антигипоксанта-ного действия растительного происхождения / Заявка на патент IAP 20260300. – 2026 – С. 1-13.
  8. Gao H., Basri R., Tran M. H. Acquired methemoglobinemia: A systematic review of reported cases //Transfusion and Apheresis Science. – 2022. – Т. 61. – №. 2. – С. 103299.
  9. Наурпетыан Н. К. Study of the antihypoxic efficiency of succinate under the conditions of methemoglobinemia //Proceedings of the YSU B: Chemical and Biological Sciences. – 2022. – Т. 56. – №. 3 (259). – С. 245-252.
  10. Lukyanova L. D., Kirova Y. I., Germanova E. L. The role of succinate in regulation of immediate HIF-1 $\alpha$  expression in hypoxia //Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2018. – Т. 164. – №. 3. – С. 298-303.
  11. MaryThomas S. et al. Acquired methemoglobinemia- An overview //Indian Journal of Pharmacy Practice. – 2019. – Т. 12. – №. 4. – С. 270-276.
-