

13. Н а е п С. // Journ. Biol. Chem. 1974. V. 249. P. 2757.
14. К е л е т и Т. Основы ферментативной кинетики. М., 1990.
15. П и к у л е в А. Т., Ш о л у х М. В., Л о п а р е в В. Н. // Материалы Всесоюз. симпозиума радиобиологии цикл. нуклеотидов. М., 1979. С. 37.
16. В л а д и м и р о в Ю. А. // Патол. физиол. и эксперим. терапия. 1989. № 4. С. 7.
17. Yegutkin G. G., Yakubovskii S. M., Gatsko G. G. // Int. Journ. Radiat. Biol. 1993. V. 63. P. 583.

УДК 661.728 + 615.015

В. А. СТЕЛЬМАХ, Т. Л. ЮРКШТОВИЧ, Е. А. СЕЛЕЗНЕВ, Н. В. ГОЛУБ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ КОРРЕКЦИЯ ГИПОКСИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ С ПОМОЩЬЮ МОНО- И АМИНОКАРБОКСИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Antihypoxic effects of sodium salts of monocarboxylcellulose and aminocarboxylcellulose (Na-MCC and Na-ACC) have been studied. No protective effects of both preparations on the model of transport (hemic) hypoxia in mice were revealed. The median effective dose of Na-MCC with hypoxic hypercapnic normobaric hypoxia was 615,0 mg/kg and of Na-ACC—480,0 mg/kg, and with histotoxic (tissual) hypoxia—360,0 mg/kg and 174,0 mg/kg, respectively.

Гипоксия является универсальным общебиологическим сигналом в регуляторных процессах жизнедеятельности; важным, а нередко и основным, синдромом разнообразной патологии [1]. Поэтому патогенетически обоснованным считается применение антигипоксантов не только в качестве базисных средств противоишемической защиты организма, но и в составе комплексной (симптоматической и профилактической) терапии различных пазологических форм заболеваний и патологических состояний [2, 3 и др.]. В то же время один из основных путей повышения эффективности медикаментозного лечения заключается в применении депо-препаратов [4], наиболее приемлемыми с медико-биологических позиций полимерными матрицами для которых являются оксигеллюлозные дериваты—монокрбоксилцеллюлоза (МКЦ) и аминокрбоксилцеллюлоза (АКЦ). Созданные лекарственные модификации целлюлозы обладают разнообразным спектром фармакологического действия и предназначены для лечения различных патологических состояний, сопровождающихся также и гипоксическим компонентом [5, 6].

В связи с этим, а также с целью уточнения сферы практического применения лекарственных модификаций МКЦ и АКЦ исследованы их антигипоксические свойства.

Материал и методика

Изучались 10 %-е коллоидные растворы натриевых солей МКЦ и АКЦ (Na-МКЦ и Na-АКЦ), приготовление которых описано в [6]. Параметры токсичности этих препаратов в условиях однократного внутрибрюшинного введения белым крысам и мышам рассчитывали методом пробит-анализа [7]. Антигипоксические эффекты Na-МКЦ и Na-АКЦ исследованы на 384 белых мышах массой 21,0±2,0 г и на 88 белых крысах массой 190,0±22,0. Гипоксическую гиперкапническую нормобарическую-гипоксию (ГГНГ) вызывали помещением мышей в герметически замкнутый сосуд объемом 80 см³; гемическую (транспортную)—внутрибрюшинным введением нитрита натрия в дозе 400 мг/кг; гистотоксическую (тканевую)—интерперитонеальной инъекцией нитропруссиды натрия в дозе (D) 20 мг/кг [8].

С целью уточнения некоторых антигипоксических эффектов только Na-АКЦ проведены исследования протекторных свойств амфолита в условиях острой гипоксии («подъем» белых мышей на «высоту» в барокамере), а также при гемической гипоксии, вызванной у мышей и крыс внутрибрюшинным введением нитрита натрия в дозе 200 мг/кг. Кроме этого, на крысах изучено защитное действие Na-АКЦ при гистотоксической гипоксии (ГГ), индуцированной диплацидом (50 мг/кг).

Исследуемые растворы вводили за 30 мин до воздействия гипоксанта внутрибрюшинно (в другую половину брюшной полости), контрольные животные получали 0,85 %-ый раствор NaCl в соответствующем объеме.

Гипо- и антигипоксические эффекты оценивали по продолжительности жизни мышей и крыс, т. е. по времени от момента воздействия гипоксанта до летального состояния животного. Для оценки реакции отдельных органов и систем организма крыс на внутрибрюшинное введение амфолита в дозе 1,5 г/кг выполнен тест «витального окрашивания» с нейтральным красным [9]. Животным за 30 мин до введения красителя инъектировали Na-AKЦ, часть из них забивали в фазе наибольшего накопления красителя через 0,5 ч, остальных—через два часа (фаза выведения). Определяли концентрацию красителя в мозге, сердце, легких, печени, почках и селезенке за эти промежутки времени [10].

Экспериментальные данные обработаны статистически, в том числе с использованием метода оценки альтернативных эффектов и расчета эффективных доз (ED_{16} , ED_{50} , ED_{84} и ED_{95}) [7] и терапевтических индексов.

Результаты и их обсуждение

Нахождение животных в замкнутом объеме приводит к поглощению ими кислорода из среды и повышенному накоплению углекислого газа—возникает синдром гипоксической гиперкапнической нормобарической гипоксии. При помещении мышей в герметичный сосуд объемом 80 см³ средняя продолжительность их жизни составляет $821,9 \pm 57,9$ с. Предварительное введение в брюшную полость растворов Na-MKЦ и Na-AKЦ в дозе 500 мг/кг способствует увеличению жизни животных (табл. 1), при этом эффект Na-MKЦ не является статистически достоверным ($p > 0,05$). В то же время аналогичная доза Na-AKЦ способствует увеличению продолжительности жизни мышей почти на 40 % ($p < 0,05$).

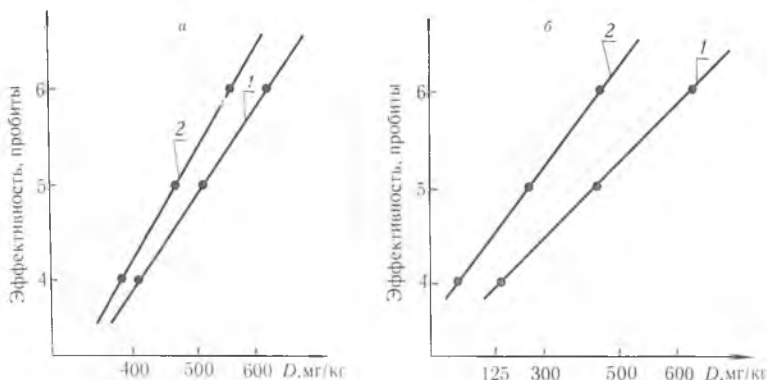


Рис. 1. Зависимость «доза—эффект» при изучении антигипоксических свойств Na-MKЦ (1) и Na-AKЦ (2) в условиях моделирования нормобарической гиперкапнической (а) и вызванной нитропруссидом натрия тканевой (б) гипоксии у белых мышей

Исследования протекторного действия Na-MKЦ в дозах 600 и 800 мг/кг и Na-AKЦ в дозах 400 и 600 мг/кг позволили с помощью альтернативной оценки эффектов [8] установить зависимость «доза—эффект» (рис. 1. По оси ординат—эффект препаратов в пробитах, рассчитанных по [8]; по оси абсцисс—доза препаратов в мг/кг). Вероятностная оценка показателей антигипоксического действия при данной модели (табл. 2) позволяет утверждать, что протекторный эффект Na-AKЦ в 1,28 раза выше, чем у Na-MKЦ. Для раствора амфолита также характерен более высокий темп нарастания защитного эффекта (см. рис. 1), что подтверждается и более высоким значением показателя $1/S \cdot ED_{50}$ (см. табл. 2). Защитное действие Na-AKЦ проявляется и на модели гипобарической гипоксии у мышей, когда введение препарата в дозах от 0,5 до 1,5 г/кг за 30 мин до «подъема» статистически достоверно увеличивает продолжительность жизни животных на 10,5—25,0 % ($p < 0,05$).

При внутрибрюшинном введении мышам нитрита натрия в дозе 400 мг/кг в течение 10—11 мин количество метгемоглобина в их крови достигает летального уровня. Введение животным в этих условиях Na-MKЦ и Na-AKЦ в дозе 500 мг/кг не оказывает защитного действия

(см. табл. 1). Наблюдаемое увеличение продолжительности жизни мышей под влиянием Na-МКЦ на 36 % не является статистически достоверным ($p < 0,05$). Однако снижение дозы гипоксанта в два раза (с 400 до 200 мг/кг) позволяет Na-АКЦ в дозе 500 мг/кг демонстрировать протекторный эффект (увеличение продолжительности жизни мышей в 1,57 раза по сравнению с контролем, $p < 0,05$). В этих же условиях не менее значимо проявляется защитное действие амфолита для крыс. Так, продолжительность жизни контрольных животных составила $45,7 \pm 2,91$ мин, опытных — $59,8 \pm 1,90$ ($p < 0,01$).

Таблица 1

Сравнительная оценка антигипоксического действия Na-АКЦ и Na-МКЦ при внутрибрюшинном введении белым мышам в дозе 500 мг/кг за 30 мин до воздействия гипоксанта (М + m)

Модель гипоксии	Продолжительность жизни мышей (с) при воздействии гипоксанта и антигипоксанта			Соотношение эффектов АКЦ/МКЦ
	контроль	Na-МКЦ	Na-АКЦ	
Транспортная (нитрит натрия, 400 мг/кг)	659,2±63,7	895,9±114,7	666,3±69,6	0,75
ГГНГ	821,9±57,9	1000,6±130,8	1138,1±113,2*	1,13
Тканевая (нитропруссид натрия, 20 мг/кг)	542,5±34,0	765,0±98,0**	1221,0±126,0***	1,60

Примечания: 1. Соотношение эффектов АКЦ/МКЦ рассчитывалось по формуле: (эффект АКЦ/эффект контроля) : (эффект МКЦ/эффект контроля). 2. Здесь и на табл. 3 статистически достоверные изменения по сравнению с контролем: *— $p < 0,05$; **— $p < 0,01$ и $p < 0,001$.

Таблица 2

Вероятностная оценка антигипоксических эффектов Na-МКЦ и Na-АКЦ на моделях гипоксии у белых мышей

Вид гипоксии	Вещество	Эффективные дозы, мг/кг				Показатели, характеризующие зависимость «доза—эффект»	
		ED ₁₆	ED ₅₀	ED ₈₄	ED ₉₅	S	1/S ED ₅₀
ГГНГ	Na-МКЦ	445,0	615,0 (512,5+738,0)	840,0	1090	1,37	$1,19 \cdot 10^{-3}$
	Na-АКЦ	325,0	480,0 (381,0+604,8)	700,0	860	1,47	$1,41 \cdot 10^{-3}$
ГГ	Na-МКЦ	155,0	360,0 (211,8+612,0)	860,0	1496	2,36	$1,17 \cdot 10^{-3}$
	Na-АКЦ	80,0	174,0 (108,8—278,4)	380,0	660	2,18	$2,18 \cdot 10^{-3}$

В условиях моделирования гистотоксической (тканевой) гипоксии и Na-МКЦ, и Na-АКЦ демонстрируют свои защитные свойства (см. табл. 1). Так, продолжительность жизни мышей при введении Na-МКЦ в дозе 500 мг/кг возрастает по сравнению с контролем на 41 % ($p < 0,01$), а Na-АКЦ—до 126 % ($p < 0,001$). Вероятностная оценка протекторных свойств обоих препаратов показала, что при тканевой гипоксии ED₅₀ Na-МКЦ составляет 360,0 (211,9÷612,0) мг/кг, а Na-АКЦ—174,0 (101,8÷278,4) мг/кг, т. е. соотношение среднеэффективных доз равно 2,07. Na-АКЦ не только более чем в два раза активнее Na-МКЦ как

антигипоксикант при тканевой гипоксии, но и обладает более высоким темпом нарастания антигипоксического действия (см. рис. 1). При этом наблюдаются более низкие показатели функции угла наклона (S) прямой «доза—эффект» и повышение показателя $1/S \cdot ED_{50}$ для Na-AKЦ на 226 % по сравнению с Na-MKЦ. В экспериментах на крысах защитное действие введенной за 30 мин до воздействия диплацида Na-AKЦ в дозах 500—1500 мг/кг выражается в увеличении продолжительности жизни животных в 1,86—2,63 раза ($p < 0,05—0,01$), однако этот эффект не является дозозависимым (рис. 2).

Известно, что тест «витальное окрашивание» отображает состояние клеточного парабиоза [10]. При этом существует зависимость между увеличением концентрации красителя в тканях и повышением удельной массы парабиотически измененных клеток в органе. Рассматривая с этих позиций данные витального окрашивания (табл. 3), следует подчеркнуть значительный антипарабиотический эффект Na-AKЦ в отношении основных анатомо-физиологических депо эритроцитов—селезенки и легких, где в фазе накопления содержание красителя меньше контрольного уровня в 1,26—1,29 % ($p < 0,05$). Можно предполагать, что в антигипоксических эффектах амфолита при моделировании состояния транспортной и гипоксической гипоксии его протекторный эффект в отношении легких и селезенки является определяющим.

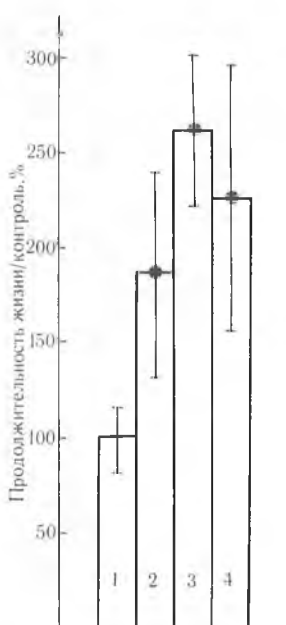


Рис. 2. Продолжительность жизни (в % к контролю) белых крыс, которым за 30 мин до введения диплацида внутривентрально инъецировали 0,85 %-й раствор NaCl (1—контроль) и Na-AKЦ в дозах 500(2), 1000 (3) и 1500 мг/кг (4)

В условиях однократного внутрибрюшинного введения белым крысам даже максимально возможных объемов препаратов (смертельные дозы веществ превышали 1500 мг / кг) летальные исходы не зарегистрированы. При интраперитонеальном введении Na-AKЦ белым мышам установлены следующие параметры токсичности: LD_{05} —2410, LD_{16} —2802, LD_{50} —3510 (3134+3931) и LD_{84} —4450 мг/кг. Смертельные дозы Na-MKЦ при введении даже максимально возможных количеств (4000 мг/кг) в брюшную полость мышшей недостижимы. Однако наличие у животных клинических признаков отравления позволяет предложить условно эту дозу в качестве LD_{05} . Следовательно, оба испытанные потенциальные гипоксиканта являются, согласно классификации парентеральной токсичности К. К. Сидорова [11], относительно безвредными химическими соединениями.

Следовательно, Na-MKЦ и Na-AKЦ демонстрируют в модельных опытах на мышшах значительные антигипоксические свойства. Наиболее отчетливо эффекты Na-MKЦ и Na-AKЦ проявляются при гипоксической гипоксии (нормобарической гиперкапнической и гипобарической). Не выявлено протекторных свойств препаратов в условиях транспортной (гемической) гипоксии, индуцированной внутрибрюшинным введением мышсам нитрита натрия в дозе 400 мг/кг. Однако снижение дозы гипоксиканта до 200 мг/кг позволяет Na-AKЦ демонстрировать протекторные свойства в экспериментах на мышшах и крысах. Вероятностный подход в определении среднеэффективных и среднесмертельных доз позволил рассчитать терапевтический индекс Na-AKЦ ($LD_{50} : ED_{50}$) для гипоксической и тканевой гипоксии у белых мышшей, который соответственно равен 7,31 и 20,2. Данный показатель свидетельствует о высоком уровне протекторных свойств у амфолита, позволяющих ему находиться в ряду таких эффективных антигипоксикантов, как оксипутираты натрия и лития, цитохром и т. д. [2].

Для целей сравнительного изучения фармакологической активности обоих дериватов целлюлозы использован нетрадиционный подход Е. В. Арзамасцева [12], предложившего применять в качестве терапев-

тического индекса соотношение $LD_{05} : ED_{05}$. Коэффициент Арзамасцева для натриевых солей АКЦ и МКЦ при тканевой гипоксии у мышей составляет соответственно 3,65 и 2,67, а при гипоксической—2,80 и 3,67. Следовательно, оба соединения представляют собой весьма эффективные антигипоксанты, уровень реализации свойств которых достаточно близок друг к другу. Однако в условиях гистотоксической гипоксии Na-AKЦ демонстрирует более выраженные протекторные эффекты, превосходя действие Na-MKЦ по среднеэффектным концентрациям более чем в два раза, а по показателю Е. В. Арзамасцева—более чем на 40 %.

Таблица 3

Показатели теста «витального окрашивания» у белых крыс при внутрибрюшинном введении Na-AKЦ в дозе 1500 мг/кг ($M \pm m$)

Исследуемые органы	Группы животных	Содержание красителя в органах, мкг/кг	
		в фазе накопления	в фазе выведения
Головной мозг	контроль опыт	35,5 $\pm$ 5,0	20,5 $\pm$ 3,0
		35,0 $\pm$ 2,7	31,0 $\pm$ 4,0
Почки	контроль опыт	92,3 $\pm$ 12,5	55,5 $\pm$ 2,9
		71,0 $\pm$ 6,2	52,0 $\pm$ 4,7
Сердце	контроль опыт	86,5 $\pm$ 8,8	72,5 $\pm$ 4,8
		80,8 $\pm$ 6,3	64,5 $\pm$ 7,3
Печень	контроль опыт	133,5 $\pm$ 13,3	84,5 $\pm$ 5,7
		120,5 $\pm$ 13,2	67,5 $\pm$ 6,5
Селезенка	контроль опыт	306,5 $\pm$ 22,3	254,5 $\pm$ 11,9
		237,0 $\pm$ 20,0*	236,8 $\pm$ 15,4
Легкие	контроль опыт	339,0 $\pm$ 56,1	271,0 $\pm$ 27,3
		268,8 $\pm$ 38,1*	260,3 $\pm$ 33,3

Ранее нами было установлено, протекторные свойства этих препаратов при модельных экзо- и эндотоксикозах с гипоксическим компонентом (гепатит, нефрит), а также *in vitro* на изолированных митохондриях реализуются положительными сдвигами в трансмембранном переносе кислорода и его внутриклеточной утилизации [13]. Это делает патогенетически обусловленным создание на основе АКЦ и МКЦ депо-препаратов, позволяющих оказывать и антигипоксические эффекты.

1. Денисенко П. П., Шевченко Н. И., Соболева С. Г. и др. // Тез. докл. VI Всесоюз. съезда фармакологов. Ташкент, 1988 С. 112.
2. Виноградов В. М., Урюпов О. Ю. // Фармакол. и токсикол. 1985. № 4. С. 9.
3. Сигидин Я. А., Шварц Г. Я., Арзамасцев А. П., Либерман С. С. Лекарственная терапия воспалительного процесса: экспериментальная и клиническая фармакология противовоспалительных препаратов. М., 1988.
4. Голиков С. Н., Гурьянов Г. А., Козлов В. К. // Фармакол. и токсикол. 1989. № 2. С. 5.
5. Капуцкий Ф. Н., Юрштович Т. Л. Лекарственные препараты на основе производных целлюлозы. Мн., 1989.
6. Капуцкий Ф. Н., Талапин В. И., Стельмах В. А. и др. // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 2. 1989. № 2. С. 49.
7. Белецкий М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Рига, 1959.
8. Караваева А. Л., Ковлер М. А., Авакусов В. М. и др. // Фармакол. и токсикол. 1989. № 1. С. 56.
9. Копеев А. И. // Гигиена и санитария. 1965. № 12. С. 54.
10. Ажиба Я. И. // Реакция организма на действие малых доз радиации. М., 1962. С. 247.
11. Сидоров К. К. // Токсикология новых промышленных химических веществ. Л., 1973. Вып. 13. С. 47.
12. Арзамасцев Е. В. // Тез. докл. V съезда фармацевтов, фармакологов и токсикологов БССР. Мн., 1989.
13. Талапин В. И., Стельмах В. А., Ушков А. А. // Материалы Всесоюз. конф. «Фармакологическая коррекция гипоксических состояний». Гродно, 1991. С. 177.