

УДК 616
ББК 252.72

О. Н. Стасюк

*аспирант, Забайкальский государственный гуманитарно-педагогический университет им. Н. Г. Чернышевского (Чита, Россия),
e-mail: olga-stasuk4@rambler.ru*

**Влияние веществ ноотропного типа действия
на кислотно-основное состояние у крыс при дефиците кислорода**

В настоящей работе представлены данные по изучению влияния веществ ноотропного типа действия при гипоксии у крыс. В качестве модели гипоксии принята гипоксия гермообъема, которая значительно изменяет кислотно-основное состояние крови. Изменяются такие показатели, как pH в сторону понижения, а также показатели pCO_2 и pO_2 , то есть зарегистрировано состояние респираторного ацидоза. Пирацетам в дозе, обладающей антигипоксическим эффектом (50 мг/кг), оказывает защитное влияние, сравнимое с действием натрия оксибутирата, являющимся эталоном по антигипоксическому эффекту. Вещество ноотропного типа действия, меклофеноксат в дозе 100 мг/кг, не имеющий антигипоксического эффекта, также оказывает защитное действие при гипоксии у крыс. Все изученные вещества оказывали защитное действие на кислотно-основное состояние при гипоксии, поставленной на этой модели.

Ключевые слова: гипоксия, ацидоз, алкалоз, ноотропы, пирацетам, натрия оксибутират, меклофеноксат.

O. N. Stasyuk

*graduate student, Zabaikalsky State Humanitarian Pedagogical University named after N. G. Chernyshevsky (Chita, Russia),
e-mail: olga-stasuk4@rambler.ru*

**The Effect of Nootropics on the Acid-Base Balance
in Rats with Oxygen Deficiency**

The article deals with the effect of nootropics on the rats under hypoxia. The study is based on germovolume hypoxia as a model of hypoxia which considerably changes the acid-base balance of blood. The indices of pH, pCO_2 , and pO_2 decrease, i. e. the author registers respiratory acidosis. Piracetam in the dose with antihypoxic effect (50mg/kg) has a protective effect comparable to the action of sodium hydroxybutyrate, which is considered an etalon of antihypoxic effect. The substance of nootropic type, meclofenoxate (100 mg/kg), with no antihypoxic effect, also has a protective effect on rats in the state of hypoxia. All studied substances had a protective effect on the acid-base balance during hypoxia, set on this model.

Keywords: hypoxia, acidosis, alkalosis, nootropics, piracetam, natrium oxybutyrate, meclofenoxate.

В процессе эволюции чувствительность человека и животных к абсолютным изменениям концентрации углекислого газа во вдыхаемом воздухе значительно выше, чем к изменениям концентрации кислорода. На начальном этапе дефицита кислорода и избытка углекислого газа увеличивается оксигенация жизненно важных органов, вследствие уменьшения сродства гемоглобина к кислороду, что облегчает переход кислорода в ткани [1; 2; 6] В то же время избыток углекислоты способствуют нейтрализации аммиака. Установлено, что у крыс при гипоксии гермообъема с увеличением концентрации углекислоты выше 40 мм. рт. ст. газообмен улучшается [3]. Повышение концентрации углекислого газа в плазме на 8,0 об % приводит к увеличению на 10,66 мм.рт. ст. pCO_2 и к сдвигу pH на

0,1 влево. Восстановительный период после острой гипоксии с гиперкапнией протекает в виде быстрого возвращения показателей кислотно-основного состояния к исходным величинам [1; 2; 6].

В настоящей работе основной целью исследования явилось изучение влияния веществ ноотропного типа в условиях острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией на кислотно-основное состояние у крыс.

Материалы и методы. Исследования выполнены на лабораторных крысах массой 100–120 грамм. На модели гипоксии гермообъёма или острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией (ОННГ) при помощи аппарата микроАструп (Дания) и привлечением номограмм Zigaard–Andersen нами изучено влияние данного вида гипоксии на кислотно-основное состояние (КОС) в ранний постгипоксический период (первые 3 часа извлечения животного из гермообъёма) и под влиянием веществ ноотропного типа действия. В работе с экспериментальными животными были соблюдены требования, изложенные в «Методических рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985). Статистическая обработка материала проводилась на IBM PC с использованием пакета программ Microsoft Excel 2007 для операционной системы Windows 7. Достоверность различий показателей в группах оценивали по величине t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Согласно результатам исследования после извлечения из гермокамеры крысы по показателям КОС крови резко отличались от интактных животных. Изменение pH снижалось до 6,66, что, согласно литературным данным [1; 2; 5; 6], соответствует ацидозу тяжёлой степени и приводит к смещению изоэлектрической точки эритроцита. При этом резко возрастает парциальное напряжение углекислого газа (в 2,5 раза, при $P < 0,001$) табл. 1), парциальное напряжение кислорода изменялось незначительно, что соответствует данным [6]. Одновременно резко истощается бикарбонатный буфер (контроль – $14,2 \pm 0,7$; гипоксия – $29,9 \pm 0,3$ ммоль/л) (табл. 1). Наблюдения показали, что в pH остается на этом же уровне ($6,70 \pm 0,02$), парциальное напряжение углекислого газа возрастает до $96,20 \pm 3,7$ мм.рт.ст., происходит изменение парциального напряжения кислорода (до 33,3). Из этого следует, что развивается респираторный ацидоз. Избыточное накопление ионов водорода, как известно, компенсируется связыванием буферными системами. В данном случае при 40 мин ОННГ наступает истощение буферных систем, pH резко сдвигается влево. Наступает декомпенсированный метаболический ацидоз.

Динамика восстановительного периода имеет следующий характер согласно полученным результатам (табл. 1). Спустя 20 мин от момента извлечения из гермокамеры pH возвращается к исходному уровню (исходное состояние $7,24 \pm 0,02$; после 40 мин экспозиции снижается до $6,66 \pm 0,02$ и через 20 мин составляет $7,23 \pm 0,03$). Парциальное напряжение углекислого газа также резко изменяется и составляет $20,7 \pm 2,2$ мм. рт. ст. Более плавно происходило восстановление парциального напряжения кислорода (с $40,3 \pm 4,3$ до $49,6 \pm 3,3$ мм. рт. ст.). Восстановительный период длиной в 3 ч приводил к изменению показателей КОС крови крыс по сравнению с показателями исходного состояния и 40 минутной экспозиции в условиях нормобарической гипоксии. Эти показатели свидетельствуют о том, что в 3-часовой период восстановления происходит приближение показателей кислотно-основного состояния крови мозга крыс к исходному. Однако, данные указывают на то, что к концу 3 ч возникает состояние гипероксии, что соответствует литературным данным. Подобные изменения описаны в литературе и укладываются в состояние под названием респираторный ацидоз [1; 2; 6], который получен нами в условиях ОННГ. Более длительное пребывание крысы в гермокамере (46 мин) приводило к летальному исходу.

Таблица 1

Изменение показателей кислотно-основного состояния крови под влиянием гипоксии

Группы животных	n – число животных	pH	pCO ₂ мм. рт. ст.	pO ₂ , ммол/л	AB ммол/л	BE, ммол/л	CO ₂ , ммол/л
Интактные крысы	16	7,24 ± 0,02	36,9 ± 2,6	49,6 ± 1,7	14,2 ± 0,8	14,9 ± 0,7	13,2 ± 0,9
Гипоксия (40 мин)	21	6,66 ± 0,02**	74,5 ± 4,8**	40,3 ± 4,3	7,5 ± 0,4**	29,9 ± 0,3**	8,6 ± 0,6
Через 20 мин после гипоксии (40 мин)	10	7,33 ± 0,003	20,7 ± 2,2**	49,6 ± 3,3	10,4 ± 0,9*	15,0 ± 0,9	15,0 ± 0,9**
Через 3 часа после гипоксии (40 мин)	8	7,22 ± 0,02	22,4 ± 0,7**	67,8 ± 3,9**	8,3 ± 0,9**	20,3 ± 1,9	9,08 ± 0,9**
Гипоксия (46 мин)	12	6,70 ± 0,02*	96,2 ± 3,7**	33,3 ± 4,7*	7,4 ± 1,2**	26,5 ± 0,9**	7,2 ± 0,6**

Примечание: * – p < 0,05; ** – p < 0,01.

Пределы pH крови, совместимые с жизнью, составляют 7,0–7,8. Оптимальными показателями крови крыс являются показатели pH в пределах 7,36–7,44. Известно, что при сдвиге pH в кислую сторону, изменения от 7,36 до 7,24 называется субкомпенсированным ацидозом, ниже 7,24 – компенсированным ацидозом, и меньше 7,0 – декомпенсированным [1; 2; 3]. В условиях нормобарической гипоксии в гермокамере ацидоз возникает, вероятно, за счёт накопления углекислоты, которая очень легко диссоциирует с образованием ионов водорода и карбоксония (H⁺ и HCO₃⁻). Наблюдаемые сдвиги гемостаза могут быть использованы в качестве показателей, характеризующих глубину дефицита кислорода у крыс. Показатели pH и pCO₂ можно использовать и при исследовании антигипоксического эффекта в качестве критерия выраженности последнего, а также для изучения «агрессивного» воздействия различных веществ или патологических состояний в эксперименте. При введении веществ ноотропного типа действия вещества происходили изменения показателей КОС крови крыс в соответствие с данными табл. 2.

Таблица 2

Влияние веществ ноотропного типа действия на кислотно-основное состояние крысы в условиях гипоксии

Группы животных	n – число животных	pH	pCO ₂ мм. рт. ст.	AB, ммол/л	BE, ммол/л	CO ₂ ммол/л
Гипоксия 40 мин.	21	6,66 ± 0,02**	74,5 ± 4,8**	7,50 ± 4	28,5 ± 0,07**	30,7 ± 0,64
Пирацетам 50 мг/кг	8	7,12 ± 0,01*	40,1 ± 1,2**	14,8 ± 0,35	12,1 ± 0,5**	16,2 ± 0,5
Натрия-оксибутират 50 мг/кг	8	7,08 ± 0,01	49,01 ± 2,6**	12,68 ± 1,0	17,52 ± 0,9**	14,11 ± 1,1
Меклофеноксат 50 мг/кг	8	6,99 ± 0,01*	51,72 ± 8,5*	10,97 ± 0,75	20,12 ± 3,5**	12,49 ± 0,5

Примечание : * – p < 0,05; ** – p < 0,01

Наиболее выражено антиацидотическое действие у вещества, производного ГАМК – натрия оксипутирата. При этом вероятно этот фармакологический эффект производного ГАМК связан со способностью продукта его превращения (янтарный полуальдегид) выполнять роль перевода в окислительную форму НАД [5], что способствует нормализации окислительного фосфорилирования и включению ГАМК в реакции по связыванию токсических продуктов азотистого метаболизма [1; 2; 6]. Предполагают, что пирацетам в отличие от натрия оксипутирата не вступает в реакции «шунта» ГАМК, способствующего образованию избытка α -кетоглутарата и связыванию свободного аммиака. В пользу этого указывает тот факт, что пирацетам не препятствует накоплению аммиака в условиях гипоксии, а натрия оксипутират предотвращает его образование [4; 5; 6]. Как указывают данные исследователей, глутаминовая кислота служит источником эффективного субстрата дыхания – янтарной кислоты, и инактивация СДГ происходит при нарушении процессов НАД – зависимого окисления, что возможно, на фоне снижения в клетке увеличения содержания восстановленного убихинона. Вероятно, показателем КОС включается удаление углекислого газа для выравнивания соотношения кислота/основание при усиленном введении ионов водорода почками и включается механизм удаления углекислого газа для выравнивания соотношения кислота/основание при усиленном выведении ионов водорода почками. При этом компенсаторно увеличивается реабсорбция HCO_3^- . У интактных животных рН находилась в пределах 7,26–7,30, тогда как после извлечения животного из гермокамеры происходило снижение рН до 6,7–6,98.

Значение щелочного резерва крови (АВ, ВЕ, $t\text{CO}_2$) изменялись соответственно имеющимся показателям основных составляющих в те же временные периоды (табл. 2). Как видно из представленных результатов исследований, пирацетам – ноотроп с умеренным противогипоксическим действием, оказывает нормализующее влияние в условиях острого респираторного ацидоза с метаболическим компонентом, судя по показателям КОС, в дозе 50 мг/кг. Механизм действия антигипоксического эффекта пирацетама связан со способностью вещества вмешиваться в метаболические процессы и, вероятно, за счёт увеличения активности ферментов дыхательной цепи и гликолиза [4; 5; 6]. С другой стороны вещество оказывает положительное влияние на КОС, вероятно, через вмешательство в аминокислотные процессы [4; 5]. Несомненно свой вклад вносит способность пирацетама улучшать микроциркуляцию головного мозга, уменьшать агрегацию и адгезию эритроцитов и следовательно, в крови, оттекающей от мозга, на фоне пирацетама будет более выгодное состояние тканевого метаболизма, что соответственно будет проявляться более обнадеживающими результатами.

Меклофеноксат, как вещество, не обладающее антигипоксическим действием, в наших исследованиях, нормализующего влияния на КОС при дефиците кислорода не выявляет. Отсюда напрашивается вывод, что вещества ноотропного типа действия с антигипоксическим эффектом обладают и антиацидотическим действием. Согласно результатам исследования, при гипоксии данного вида у крыс развивается респираторный ацидоз с метаболическим компонентом. В зависимости от длительного пребывания в гермокамере сдвиги кислотно-основного состояния крови имеет характерную картину. У крыс через 40 мин развивается состояние острого респираторного ацидоза с метаболическим компонентом, после 46-минутного пребывания в гермокамере, которое можно охарактеризовать как состояние декомпенсированного метаболического ацидоза (рН–6,7; $p\text{CO}_2$ –94,6 мм. рт. ст. в табл. 1), наступала в 100 % случаях летальность. Через 20 мин после гипоксического воздействия (40 минутной экспозиции ОНГТ) показатели кислотно-основного состояния приближаются к норме. Однако спустя 2 часа после извлечения из гермокамеры появляется новое состояние, характеризующееся явлением гипероксии, что соответствует литературным данным. Известные вещества, вводимые животному перед помещением его в гермокамеру, вызвали изменения в картине данного вида ацидоза, согласно полученным результатам у крыс в табл. 2.

При нарастании тканевой углекислоты происходит закисление внутритканевой жидкости, что проявляется сдвигом рН в кислую сторону. Сдвиг внутриклеточного рН в сторону ацидоза оказывает положительное влияние на тканевой метаболизм мозга и снижает потребность мозга в кислороде [1; 2; 5; 6]. При изучении обменных процессов установлено, что острая гипоксия изменяет активность трансаминаз АЛТ, АСТ [5]. Как известно, глутаминовая кислота способствует образованию α -кетоглутаровой. Антигипоксический эффект экзогенной глутаминовой кислоты большинство исследователей объясняет способностью связывать аммиак и превращаться в глутамин. И кроме того, антигипоксический эффект экзогенной глутаминовой кислоты связывают с реакцией переаминирования со щавелевоуксусной кислотой, при этом создаются условия для активности СДГ.

Таким образом, нормобарическая гипоксическая гипоксия с гиперкапнией является более физиологичной на начальной стадии своего развития по сравнению с гипоксической гипобарической гипоксией без избытка углекислоты в качестве повреждающего воздействия. Исходя из вышеизложенного, можно утверждать, что в скрининговых исследованиях антигипоксантов можно использовать модель острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией и определением показателей КОС. В этом случае прогностическим моментом определения антигипоксического эффекта вещества ноотропного типа действия является восстановление показателей КОС до нормы или облегчение состояния респираторного ацидоза с метаболическим компонентом у крыс.

Список литературы

1. Агапов Ю. А. Кислотно-щелочный баланс. М. : Медицина, 1968. 182 с.
2. Иванов И. П., Кисляков Ю. Я. Энергетические потребности и кислородное обеспечение мозга. Л. : Наука, 1979. 197 с.
3. Маилян Э. С., Коваленко Е. А., Буравкова Л. Б. Комбинированный метод изучения тканевого дыхания в условиях естественного гипоксического состояния // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1981. № 5. С. 103.
4. Островская Р. У., Трофимов С. С. Соотношение антигипоксического и ноотропного эффектов в спектре действия производных «шунта ГАМК» // Механизм действия и клиника производных ГАМК. Тарту, 1984. С. 46–48.
5. Лукьянова Л. Д., Богомолов В. И. Сравнительный анализ белков коры головного мозга крыс с разной чувствительностью к гипоксии // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. 1992. № 12. С. 657–660.
6. De Backer D. Lactic acidosis // Intensive Care Med. 2003. Vol. 29. P. 699–702.

Рукопись поступила в редакцию 14.12.2011