

DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-3-8-10

## ВЛИЯНИЕ ЭССЕНЦИАЛЕ Н НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРОДОЛЬНЫХ ПЕРЕГРУЗОК “ГОЛОВА-ТАЗ” (+G<sub>z</sub>) И ОСТРОЙ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Ю. Н. Чернов<sup>1</sup>, М. В. Васин<sup>2</sup>, И. Б. Ушаков<sup>3,4</sup>

Опыты проведены на 86 беспородных белых крысах. Животных подвергали воздействию продольных “голова-таз” перегрузок (+G<sub>z</sub>) величиной 2 ед в течение 2 мин или острой гипоксической гипоксии при “подъеме на высоту” 10,5 км при скорости подъема 20 м/с и нахождении на “площадке” 10,5 км в течение 30 мин. Препарат Эссенциале Н в виде раствора, содержащего фосфатидилхолин, никотинамид, цианкобаламин, пиридоксин и натрий-d-пантотенат, вводили крысам внутривентрально в дозе 4 мл/кг (200 мг/кг по содержанию в препарате фосфолипидов и 20 мг/кг никотинамида) за 15 – 20 мин до воздействия экстремальных факторов. Применение эссенциале Н сопровождалось снижением числа погибших под воздействием продольных перегрузок “голова-таз” (+G<sub>z</sub>) и острой гипоксической гипоксии крыс на 31 и 60 %, соответственно ( $p < 0,05$ ).

**Ключевые слова:** продольные перегрузки “голова-таз”; острая гипоксическая гипоксия; эссенциале Н; крысы.

### ВВЕДЕНИЕ

Ранее был установлен нейропротекторный эффект препарата Эссенциале Н на модели геморрагического инсульта в опытах на крысах линии Крушинского-Молоткина [1, 3]. Эссенциале Н (Rhône-Poulenc Rorer), Франция представляет собой комплексный препарат, в состав которого входят фосфолипиды (фосфатидилхолин из соевых бобов), витамины никотинамид, пиридоксин, цианкобаламин и натрий-d-пантотенат. По-видимому, обнаруженные нейропротекторные свойства эссенциале Н во многом обусловлены входящим в его состав никотинамидом. Об этом свидетельствуют результаты изучения нейропротекторных свойств никотинамида на модели травматического повреждения головного мозга (ГМ) [4, 6, 7, 14]. Тем не менее, каждый из витаминов, входящий в состав эссенциале Н, гипотетически может положительно влиять на реализацию фармакологического эффекта никотинамида и на течение патологического процесса при развитии острой гипоксии ГМ. Известно значение пиридоксина и цианкобаламина для нормальной деятельности ЦНС [6, 10], кроме того, пантотеновая кислота является суб-

стратом для синтеза КоА, ключевого кофермента, участвующего в окислении пирувата в цикле Кребса. Увеличивая уровень восстановленного глутатиона в клетке, она оказывает антиоксидантное и противовоспалительное действие [10]. Для всех отмеченных компонентов препарата важна роль фосфатидилхолина для прохождения через гематоэнцефалический барьер [11].

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния эссенциале Н на выживаемость крыс на модели острой гипоксии ГМ при воздействии смертельных перегрузок “голова-таз” и острой гипоксической гипоксии при быстром снижении барометрического давления в атмосфере, как критического фактора травматического повреждения головного мозга.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на беспородных белых крысах-самках массой 220 – 250 г (Центральный питомник лабораторных животных РАН, Московская область). Животных содержали в виварии в клетках по 5 особей, они получали брикетированный корм и воду из поилки. Предварительно зафиксированные за конечности крысы подвергались воздействию продольных перегрузок “голова-таз” (+G<sub>z</sub>) величиной 2 ед (относительная единица, показывающая во сколько раз увеличивается масса тела, по сравнению с обычными условиями под влиянием перегрузок) в течение 2 мин на центрифуге с плечом 4,25 м. В барокамере крыс “поднимали” на “высоту” 10,5 км со скоростью 20 м/с, на “площадке” которой они находились под наблюдением 30 мин.

Эссенциале Н в виде раствора вводили внутривентрально в дозе 4 мл/кг (200 мг/кг по содержанию фосфолипидов и 20 мг/кг по никотинамиду) за 15 – 20 мин

<sup>1</sup> Воронежский государственный медицинский университет имени Н. Н. Бурденко, Минздрава России, Россия, 394036, Воронеж, ул. Студенческая, 10.

<sup>2</sup> Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, Россия, 123242, Москва, ул. Баррикадная 2/1.

<sup>3</sup> ГНЦ РФ — Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна ФМБА России, Россия, 123182, Москва, ул. Живописная, 46.

<sup>4</sup> Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова МЧС России, Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 4/2.

до начала воздействия перегрузки или подъема животных на “высоту”. Данное время выбрано, исходя из срока достижения его максимальной концентрации в клетках крови (10 мин) [2] и прохождения препарата через ГЭБ. Крысам контрольной группы вводили физиологический раствор в объеме 1 мл. Эффективность эссенциале Н оценивали по выживаемости крыс во время воздействия продольной перегрузки +G<sub>z</sub> и острой гипоксической гипоксии.

Соблюдены международные принципы Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным.

Достоверные различия между экспериментальными данными оценивали по точному критерию Фишера.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Воздействие продольных перегрузок “голова-таз” до 2 ед/с в течение 2 мин вызывало гибель 58,3 % крыс. Предварительное применение эссенциале Н за 15–20 мин до начала экстремального воздействия снижало смертность животных на 31 % ( $p < 0,05$ ) (таблица).

При нахождении на “площадке 10,5 км” в течение 30 мин большая часть крыс (75 %) погибала на фоне тяжелой одышки и судорог. Предварительное применение эссенциале Н за 15–20 мин до подъема на высоту снижало их смертность на 60 % ( $p < 0,05$ ) (таблица).

Причиной гибели животных в обоих случаях экстремального воздействия является развитие острой гипоксии, прежде всего, ткани ГМ вследствие ее высокоэнергетического потребления и наибольшей интенсивности потребления кислорода, по сравнению с другими тканями. На модели перегрузок “голова-таз” создавалась локальная острая гипоксия ГМ. Снижение смертности животных в данных условиях под воздействием эссенциале Н происходит, прежде всего, за счет входящего в его состав никотинамида и связано с нейропротекторными свойствами препарата.

Механизм нейропротекторного действия никотинамида в настоящее время недостаточно ясен. Есть предположения о том, что он может быть обусловлен субстратной поддержкой клеточного дыхания через увеличение синтеза НАД<sup>+</sup> при окислительном повреждении тканей. Блокируя фермент PARP, участвующий в репарации ДНК, никотинамид препятствует снижению содержания НАД<sup>+</sup> в нейронах [4, 10].

Возможны косвенные пути реализации действия никотинамида, снижающие проявления вторичного каскада эффектов тканевого повреждения (воспаление, генерация свободных радикалов, гибель нейронов от перевозбуждения) [6–8]. Последний эффект может осуществляться за счет активации сиртуина (НАД-зависимой протеин деацетилазы), подавляющего метаболический стресс при генерации энергии в митохондриях нейронов [4, 5]. Участвуя в синтезе никотинмононуклеотида никотинамид способствует активации Nrf2/НО-1, который тормозит окислительный стресс и

процессы воспаления, что снижает апоптоз нейронов в поврежденной ткани ГМ [15].

Определенный вклад в нейропротекцию, связанную с влиянием никотинамида, может внести торможение активации глутаматных рецепторов нейроцитов через ГАМК/бензодиазепиновые рецепторы путем стабилизации мембранного потенциала клеток [13]. Очевидно, что таким путем никотинамид снижает гибель нейронов от эксайтотоксичности, сопровождаемой чрезмерной активацией тканевого дыхания с развитием острой клеточной гипоксии.

Нейропротекторный эффект никотинамида достигается в экспериментальных моделях в опытах на крысах при его применении в относительно больших дозах (50–500 мг/кг), что рассматривают как большой его недостаток [5]. Высокая эффективность эссенциале Н, содержащего никотинамид в таких количествах, которые обеспечивают его применение в дозе 20 мг/кг, возможно обусловлена как положительным влиянием комплекса витаминов в составе эссенциале Н на клеточное дыхание, так и возможным их потенцированием нейропротекторного и антигипоксического эффекта никотинамида.

Никотинамид применяется в клинической практике в больших дозах (0,5–5 г) для лечения ряда заболеваний ЦНС, в том числе, дегенеративной природы, что осложняется ростом риска его побочных эффектов [9]. Применение эссенциале Н позволило бы снизить дозу никотинамида и, тем самым, уменьшить риск осложнений при сохранении его эффективности. Всесторонние исследования по оценке механизма нейропротекторного действия никотинамида являются важной основой для обоснования его применения в профилактике и терапии экстремальных состояний острой ишемии мозга и его травмы [4].

## ВЫВОД

Эссенциале Н в дозе 4 мл/кг (20 мг/кг по никотинамиду), внутривентриально за 15–20 мин до воздействия продольных перегрузок “голова-таз” (+G<sub>z</sub>, 2 ед, 2 мин) и острой гипоксической гипоксии (“высота”

**Влияние применения эссенциале Н (однократно внутривентриально 4 мл/кг) на выживаемость крыс при действии перегрузок “голова-таз” (+G<sub>z</sub>, 2 ед, 2 мин) или острой гипоксической гипоксии при “подъеме” крыс в барокамере на “высоту” 10,5 км**

Группы	Исходное количество крыс	Количество крыс после нагрузки	Выживаемость, %
Gz	24	10	41,7
Эссенциале + Gz	22	16	72,7*
Острая гипоксическая гипоксия	20	5	25,0
Эссенциале + острая гипоксическая гипоксия	20	16	85,0*

Примечание: \* по сравнению с контрольной группой  $p < 0,05$  (точный критерий Фишера).

10,5 км за 10 мин) снижает смертность крыс на 31 и 60 % соответственно ( $p < 0,05$ ).

## ЛИТЕРАТУРА

1. М. В. Васин, Т. В. Рясина, Ю. Н. Чернов, *Цитология*, **41**(9), 812 – 813 (1999).
2. Д. Д. Мориков, В. И. Горбачев, В. В. Дворниченко и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **73**(1), 26 – 29 (2010).
3. Т. В. Рясина, М. В. Васин, Л. Д. Смирнов и др., *Успехи геронтологии*, **6**, 67 (2001).
4. R. A. Fricker, E. L. Green, S. I. Jenkins, S. M. Griffin, *Int. J. Tryptophan. Res.*, **11**(1178646918776658) (2018); doi: 10.1177 / 1178646918776658.
5. L. Guoxiang, P. Seong-Hoon, I. Marta, et al., *Antioxid. Redox Signal.*, **26**(15), 849 – 863 (2017); doi: 10.1089 / ars.2016.6662.
6. M. R. Hoane, D. R. Gilbert, M. A. Holland, J. L. Pierce, *Neurosci. Let.*, **408**(1), 35 – 39 (2006); doi: 10.1016/j.neulet.2006.07.011.
7. M. R. Hoane, J. L. Pierce, M. A. Holland, G. D. Anderson, *Neuroscience*, **154**(3), 861 – 868 (2008); doi: 10.1016/j.neuroscience.2008.04.044.
8. M. A. Holland, A. A. Tan, D. C. Smith, M. R. Hoane, *J. Neurotrauma*, **25**(2), 140 – 152 (2008); doi.org/10.1089/neu.2007.0312.
9. E. S. Hwang, S. B. Song, *Biomolecules*, **10**, 687 (2020).
10. R. Moretti, C. Peinkhofer, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**(22), 5797 (2019); doi: 10.3390/ijms20225797.
11. R. P. Patrick, *FASEB J.*, **33**(2), 1554 – 1564 (2019); doi: 10.1096/fj.201801412R.
12. D. A. Shear, C. E. Dixon, H. M. Bramlett, *J. Neurotrauma*, **33**(6), 523 – 537 (2016); doi: 10.1089/neu.2015.4115.
13. M. Slomka, E. Zieminska, E. Salinska, J. W. Lazarewicz, *Folia Neuropathol.*, **46**(1), 69 – 80 (2008).
14. C. Vonder der Haar, G. D. Anderson, M. R. Hoane, *Behav. Brain Res.*, **224**(2), 311 – 317 (2011); doi: 10.1016/j.bbr.2011.06.009.
15. C.-C. Wei, Y.-Y. Kong, G.-Q. Li, et al., *Scientific Reports*, **7**(717) (2017).

Поступила 04.05.18

## EFFECT OF ESSENTIALE H ON RAT SURVIVAL UNDER EXPOSURE TO LONGITUDINAL HEAD-PELVIC OVERLOADS (+GZ) AND ACUTE HYPOXIC HYPOXIA

Yu. N. Chernov<sup>1</sup>, M. V. Vasin<sup>2</sup>, and I. B. Ushakov<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> N. N. Burdenko Voronezh Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, ul. Stencheskaya 10, Voronezh, 394036 Russia

<sup>2</sup> Russian Medical Academy of Postgraduate Professional Education, Ministry of Health of the Russian Federation, ul. Barrikadnaya 2/1, Moscow, 123242 Russia

<sup>3</sup> A. I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Federal Biomedical Agency, Ministry of Health of the Russian Federation, ul. Zhivopisnaya 46, Moscow, 123182 Russia

<sup>4</sup> A. M. Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine, Ministry of Emergency Situations of the Russian Federation, ul. Akademika Lebedeva 4/2, St. Petersburg, 194044 Russia

Experiments carried out on 86 white outbred rats exposed to longitudinal “head-pelvis” overloads (+Gz) (2 units over 2 min) or acute hypoxic hypoxia at “ascent to summit” 10.5 km at a speed of 20 m/s and “landing” 10.5 km over 30 min. Essentiale H in the form of a solution containing phosphatidylcholine, nicotinamide, cyanocobalamin, pyridoxine and sodium-D-pantothenate was administered intraperitoneally to rats at a dose of 4 mL/kg (200 mg/kg by phospholipid and 20 mg/kg nicotinamide) 15 – 20 min before exposure to extreme factors. Essentiale H administration reduced rat death rate due to longitudinal head-pelvic overloads (+Gz) and acute hypoxic hypoxia by 31 and 60%, respectively ( $p < 0.05$ ).

**Keywords:** longitudinal “head-pelvis” overloads (+Gz); acute hypoxic hypoxia; Essentiale N; rats.