

БЕМИТИЛ ПОТЕНЦИРУЕТ антиоксидантные эффекты импульсной гипоксической тренировки

И.В. ЗАРУБИНА, Ф.Н. НУРМАНБЕТОВА, Е.Ф. АГАДЖАНЯН, П.Д. ШАБАНОВ

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Зарубина И.В., Нурманбетова Ф.Н., Агаджанян Е.Ф., Шабанов П.Д. Бемитил потенцирует антиоксидантные эффекты импульсной гипоксической тренировки. // Психофармакол. и биол. наркол. 2005. Т. 5. № 1. С. 836–840. Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, 194044, ул. Лебедева, 6, shabanov@mail.rcom.ru.

В экспериментах на животных в течение трех дней импульсной тренировкой вырабатывалась адаптация к гипоксической гипоксии в проточной барокамере. Однодневный цикл тренировки состоял из шестикратного подъема крыс со скоростью 15 м/с на высоту 5000 м и экспозицией в течение 30 мин. В середине и конце подъемов дополнительно поднимали крыс на высоту 6500 м, после чего сразу осуществляли спуск на высоту 5000 м. Бемитил вводили

внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг массы тела на протяжении трех дней сразу после окончания однодневного цикла тренировки. Показано, что бемитил усиливает адаптивные метаболические изменения в головном мозге крыс, вызванные тренировкой к гипоксической гипоксии и повышает индивидуальную чувствительность к гипоксии, обладает пролонгированным эффектом.

Ключевые слова: интервальная гипоксическая гипоксия, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, бемитил.

Zarubina I.V., Nurmanbetova F.N., Shabanov P.D. Bemythil strengthens antioxidative effects of interval hypoxic training. // Psychopharmacol. Biol. Narcol. 2005. Vol. 5. № 1. P. 836–840. Military Medical Academy, St.Petersburg,

194044, Lebedeva street, 6, shabanov@mail.rcom.ru.

Rats were adapted to hypoxic hypoxia by interval training in a flow pressure chamber for three days. One-day training cycle consisted of six elevations of rats at a velocity of 15 m/sec to the height of 5000 m and 30-min exposure. Additional elevations to the height of 6500 m with immediate lowering to 5000 m were made in the middle and the end of elevations. Bemythil was injected intraperitoneally (25 mg/kg) for 3 days directly after one-day training. Bemythil both stimulated adaptive metabolic changes in the brain of rats, induced by hypoxic training, and enhanced individual sensitivity to hypoxia possessing prolonged effect.

Key words: interval hypoxic hypoxia, lipid peroxidation, antioxidative system, bemythil.

ВВЕДЕНИЕ

Дефициткислорода требует максимальной мобилизации и напряжения потенциальных адаптивных возможностей организма. Прерывистое воздействие гипоксии, в отличие от длительного, ведет к перестройке гомеостаза, направленной на поддержание стационарного состояния и сохранение оптимальных форм функционирования организма в изменившихся условиях существования [6]. Генетически и фенотипически детерминированные индивидуальные различия в чувствительности к гипоксии способствуют дифференцированному формированию срочных и длительных механизмов адаптации. Тренировка организма к кислородной недостаточности повышает устойчи-

вость к ней и сопровождается многогранными адаптивными изменениями. Однако формирование адаптации — процесс сложный, многоуровневый и долговременный [1]. Возможность усиления и закрепления эффектов физиологических способов повышения устойчивости к гипоксии и обеспечения оптимальности и стабильности адаптивного ответа, в том числе и у тренированного к гипоксии организма, предоставляется при сочетании высотных тренировок с эффективными фармакологическими препаратами с быстрым стимулирующим влиянием на процессы адаптации. Этим требованиям отвечает препарат бемитил — 2-этилтиобензимидазола гидробромид, предназначенный для поддержания физической работоспособности, в том числе и в осложненных гипоксией условиях.

Адаптивный эффект бемитила обусловлен лежащими в основе его механизма действия неспецифическим усилением протеинсинтеза и активацией генома клетки, что составляет необходимое звено в реализации основных факторов долговременной адаптации к высотной гипоксии [4]. Известна возможность усиления и закрепления высотных тренировок при их сочетании с применением бемитила, оцениваемая по критерию выживаемости животных на высоте [5]. В развитии адаптационных реакций базовую резистентность животных к гипоксии и ее способность повышения при адаптации наряду с энергетическим обменом определяют и свободнорадикальные процессы. Ранее было показано, что бемитил эффективно ингибирует процессы неферментативного и ферментативного железоиндуцированного перекисного окисления липидов (ПОЛ) в метаболизирующей и неметаболизирующей модельных системах и экспериментально обосновано наличие первичных антиоксидантных свойств у бемитила [3].

Целью работы явилось изучение возможности усиления бемитилом антиоксидантных эффектов тренировки к периодической гипоксической гипоксии крыс с различной индивидуальной устойчивостью к гипоксии.

МЕТОДИКА

Исследование проведено на крысах-самцах массой 160–180 г. Предварительно всех животных разделяли по устойчивости к острой гипоксии, поднимая их в барокамере на высоту 12 000 м со скоростью 50 м/с и экспозицией на высоте до возникновения агонального дыхания. Животные, выдерживающие воздействие гипоксии в течение 5–10 мин, считались низкоустойчивыми (НУ), более 10 мин — высокоустойчивыми (ВУ). Адаптация к гипоксической гипоксии вырабатывалась в течение трех дней импульсной тренировки в проточной барокамере. Однодневный цикл тренировки состоял из шестикратного подъема крыс со скоростью 15 м/с на высоту 5000 м и экспозицией на высоте в течение 30 мин. Интервал между подъемами составлял 20 мин. В середине и конце подъемов дополнительно поднимали крыс на высоту 6 500 м, после чего осуществляли спуск на высоту 5000 м. Бемитил вводили внутрибрюшинно в оптимальной эффективной дозе 25 мг/кг массы тела на протяжении трех дней сразу после окончания однодневного цикла тренировки. Контрольную группу составляли тренированные и нетренированные крысы, получавшие в эквивалентном объеме физиологический раствор. О

процессах перекисного окисления в полушариях головного мозга судили по содержанию в замороженных в жидком азоте тканях диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, о функциях антиоксидантных систем — по активностям каталазы [9] и супероксиддисмутазы [2], содержанию восстановленного глутатиона [7]. Эффективность применения бемитила в сочетании с разработанным способом интервальной тренировки исследовали в двух сериях экспериментов. В первой серии животные спустя неделю после окончания цикла тренировок в сочетании с бемитилом подвергались воздействию острой гипоксии на высоте 8000 м при подъеме их в барокамере со скоростью 50 м/с и экспозицией на высоте в течение 30 мин. Контролем служили нетренированные крысы, перенесшие острую гипоксию. Во второй серии спустя неделю после окончания цикла тренировок в комбинации с бемитилом крысам наносили закрытую черепно-мозговую травму средней тяжести свободно падающим из полой трубы высотой 80 см и диаметром 1,3 см на теменную область головы грузом массой 64 г [8]. Контролем служили нетренированные крысы, перенесшие черепно-мозговую травму. Результаты исследований обрабатывали статистически по общепринятым методам с использованием *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Тренировка животных к гипоксии в импульсном режиме сопровождалась снижением содержания продуктов перекисного окисления липидов в мозге высоко- и низкоустойчивых животных по сравнению с действием острой гипоксии. В мозге высокоустойчивых особей содержание диеновых конъюгатов достоверно снизилось на 14%, в мозге низкоустойчивых крыс — на 16% (табл. 1). Содержание малонового диальдегида у высокоустойчивых крыс было на 45%, а у низкоустойчивых на 12% меньше, чем при действии острой гипоксии ($p < 0,05$).

Наряду с этим при импульсной гипоксической тренировке возрастала активность антиоксидантной системы (табл. 2). Содержание восстановленного глутатиона достоверно увеличилось у высокоустойчивых на 45%, у низкоустойчивых крыс на 22%, активность супероксиддисмутазы на 85% и на 29% соответственно. Наблюдаемая при острой гипоксии гиперактивация каталазы в мозге высокоустойчивых крыс в результате цикла гипоксических тренировок снижалась на 34% и, на-

Таблица 1

Влияние сочетания импульсной тренировки с бемитилом на процессы перекисного окисления липидов в головном мозге крыс ($M \pm m$, $n = 8$)

Показатели	Группы животных	Высокоустойчивые	Низкоустойчивые
Диеновые конъюгаты, мкмоль/г	Интakтные животные	18,33 $\pm$ 0,13	24,09 $\pm$ 0,12
	Гипоксия	25,75 $\pm$ 0,26 ^a	32,12 $\pm$ 0,25 ^a
	Тренировка	22,13 $\pm$ 0,22 ^{ab}	27,14 $\pm$ 0,21 ^{ab}
	Тренировка + бемитил	19,11 $\pm$ 0,17 ^b	23,86 $\pm$ 0,19 ^b
МДА, мкмоль/г	Интakтные животные	6,56 $\pm$ 0,17	7,66 $\pm$ 0,16
	Гипоксия	16,69 $\pm$ 0,24 ^{ab}	19,47 $\pm$ 0,21 ^{ab}
	Тренировка + бемитил	8,02 $\pm$ 0,21 ^b	7,47 $\pm$ 0,13 ^b

Примечание: *a* — $p < 0,05$ по сравнению с группой интактных животных, *b* — $p < 0,05$ — с группой крыс в состоянии острой гипоксии.

Таблица 2

Влияние сочетания импульсной тренировки с бемитилом на активность антиоксидантных систем в головном мозге крыс ($M \pm m$, $n = 8$)

Показатели	Группы животных	Высокоустойчивые	Низкоустойчивые
Восстановленный глутатион, мкмоль/г	Интakтные животные	42,09 $\pm$ 0,69	31,12 $\pm$ 0,19
	Гипоксия (контроль)	23,10 $\pm$ 0,23 ^a	18,15 $\pm$ 0,21 ^a
	Тренировка	33,12 $\pm$ 0,14 ^{ab}	22,18 $\pm$ 0,18 ^{ab}
	Тренировка + бемитил	39,57 $\pm$ 0,15 ^b	30,19 $\pm$ 0,16 ^b
СОД, А/мг белка	Интakтные животные	3,11 $\pm$ 0,09	2,09 $\pm$ 0,05
	Гипоксия	1,20 $\pm$ 0,05 ^a	0,86 $\pm$ 0,07 ^a
	Тренировка	2,22 $\pm$ 0,04 ^{ab}	1,11 $\pm$ 0,06 ^{ab}
	Тренировка + бемитил	3,38 $\pm$ 0,02 ^b	2,87 $\pm$ 0,04 ^b
Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ /мин · мг белка	Интakтные животные	5,91 $\pm$ 0,52	3,19 $\pm$ 0,33
	Гипоксия	12,36 $\pm$ 0,59 ^a	1,46 $\pm$ 0,19 ^a
	Тренировка	8,32 $\pm$ 0,19 ^{ab}	2,13 $\pm$ 0,17 ^{ab}
	Тренировка + бемитил	7,04 $\pm$ 0,13 ^b	2,56 $\pm$ 0,18 ^b

Примечание: *a* — $p < 0,05$ по сравнению с группой интактных животных, *b* — с группой крыс при действии острой гипоксии.

против, увеличивалась на 46% в мозге низкоустойчивых животных ($p < 0,05$).

Интервальная тренировка, в отличие от острой гипоксии, ограничивала накопление продуктов перекисного окисления липидов и угнетение антиоксидантных систем у высокоустойчивых и низкоустойчивых крыс. В то же время, по сравнению с интактными животными, в мозге тренированных крыс на фоне относительной активации каталазы и супероксиддисмутазы содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида оставалось достоверно выше, а содержание восстановленного глутатиона ниже. Эти изменения более выражены у низкоустойчивых особей.

Изучение возможности фармакологического усиления бемитилом физиологических способов повышения устойчивости крыс к свободно-радикальным процессам гипоксического генеза показало, что препарат в сочетании с гипоксической тренировкой эффективно корректирует процессы чрезмерной липопероксидации в мозге крыс обеих групп. По сравнению с тренированными крысами, не получавшими бемитил, содержание первичных продуктов перекисного окисления липидов — диеновых конъюгатов — в головном мозге высоко- и низкоустойчивых крыс снижалось в среднем на 14% ($p < 0,05$). Содержание вторичных продуктов перекисного окисления липидов — малонового диальдегида — достоверно уменьшалось в группах высоко- и низкоустойчивых животных на 13 и 56% соответственно. При использовании в курсе гипоксических тренировок бемитила изменения в процессах перекисного окисления липидов на-

Таблица 3

Влияние бемитила на продолжительность жизни крыс при острой гипоксии (11 000 м)

Группы животных	Продолжительность жизни, мин	Продолжительность жизни, мин
	Высокоустойчивые	Низкоустойчивые
Нетренированные	12,54 $\pm$ 0,45	4,15 $\pm$ 0,35
Тренированные	13,06 $\pm$ 0,34*	4,97 $\pm$ 0,27*
Тренированные + бемитил	14,78 $\pm$ 0,35**	7,92 $\pm$ 0,28**
Острая гипоксия в группе тренированных + бемитил	14,74 $\pm$ 0,57	10,12 $\pm$ 0,63***

Примечание: * — $p < 0,05$ по сравнению с группой нетренированных крыс, ** — $p < 0,05$ по сравнению с группой тренированных крыс, *** — $p < 0,05$ по сравнению с действием первого эпизода острой гипоксии.

блюдались на фоне активации антиоксидантных систем мозга животных обеих групп. Содержание восстановленного глутатиона увеличивалось в мозге высокоустойчивых на 19% и низкоустойчивых животных на 36% ($p < 0,05$). Активность супероксиддисмутазы достоверно увеличивалась в мозге высокоустойчивых и низкоустойчивых крыс на 52 и 159%, соответственно. Применение бемитила в курсе гипоксических тренировок корригировало активность каталазы, снижая ее активность в мозге высокоустойчивых крыс на 15% и увеличивая в мозге низкоустойчивых животных на 20% по отношению к эффектам гипоксической тренировки без фармакологической поддержки. При этом в группе низкоустойчивых животных активность каталазы восстанавливалась до уровня, характерного для интактных животных.

Таким образом, при гиперактивации процессов перекисного окисления липидов бемитил оказывает выраженное антиоксидантное действие и его использование в курсе интервальной гипоксической тренировки усиливает эффекты тренировки, повышает адаптивные метаболические изменения в головном мозге крыс с различной индивидуальной устойчивостью к гипоксии.

Эффективность потенцирования адаптации бемитилом оценивали сразу по окончании цикла тренировок в условиях острой гипоксии на высоте 11 000 м, регистрируя продолжительность жизни животных. Нетренированные высокоустойчивые крысы выдерживали высоту в 11 000 м в среднем в течение 12,54 мин, а низкоустойчивые — 4,15 мин (табл. 3). После курса импульсной тренировки продолжительность жизни на высоте возрастала у высокоустойчивых до 13,06 мин, у низкоустойчивых до 4,97 мин. При сочетании тренировки с бемитилом продолжительность жизни на высоте у высокоустойчивых повышалась на 13% и на 59% у низкоустойчивых крыс по сравнению с не получавшими препарат тренированными животными.

Для выяснения длительности антигипоксического эффекта сочетанного применения гипоксической тренировки с бемитилом выжившим животным спустя неделю предъявляли повторную острую гипоксию. У высокоустойчивых крыс, получавших бемитил в цикле гипоксической тренировки, значения продолжительности жизни на высоте сохранялись и увеличивались у низкоустойчивых крыс в два раза по сравнению с тренированными животными, не получавшими препарат. При этом у низкоустойчивых животных препарат проявлял более выраженное пролонгированное действие, достоверно увеличивая их продолжительность жизни на 7% по сравнению с действием на них первого гипоксического эпизода.

Метаболические изменения при острой гипоксии в головном мозге тренированных на фоне действия бемитила животных обеих групп были более сглаженными, чем при действии острой гипоксии в контрольной группе не получавших препараты нетренированных животных (рис. 1). В мозге высокоустойчивых животных содержание диеновых конъюгатов было на 17%, а в мозге низкоустойчивых на 15% ниже, чем в контроле. Содержание малонового диальдегида снижалось у высокоустойчивых крыс на 30%, у низкоустойчивых — на 20%. На фоне действия бемитила содержание восстановленного глутатиона в мозге высокоустойчивых крыс было на 26%, а в мозге низкоустойчивых на 20% выше, чем у нетренированных крыс при острой гипоксии. Активность супероксиддисмутазы в мозге высокоустойчивых достоверно превышала на 54%, а низкоустойчивых — на 113% уровень фермента у нетренированных животных при острой гипоксии. На фоне применения бемитила в ходе гипоксической тренировки активность каталазы в мозге высокоустойчивых крыс была на 18% ниже, а в мозге низкоустойчивых на 16% выше, чем в контроле.

Эффективность повышения устойчивости организма с помощью разработанного метода интервальной гипоксической тренировки при фармакологической поддержке бемитилом оценивали также при черепно-мозговой травме у крыс. Установлено, что метаболические изменения в головном мозге предварительно тренированных с бемитилом крыс менее глубокие, чем в контрольной

Рис. 1.

Влияние предварительной интервальной гипоксической тренировки в сочетании с бемитилом на процессы перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных систем в головном мозге крыс при острой гипоксии

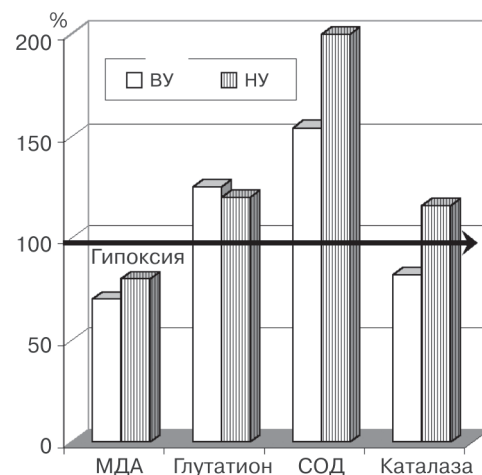
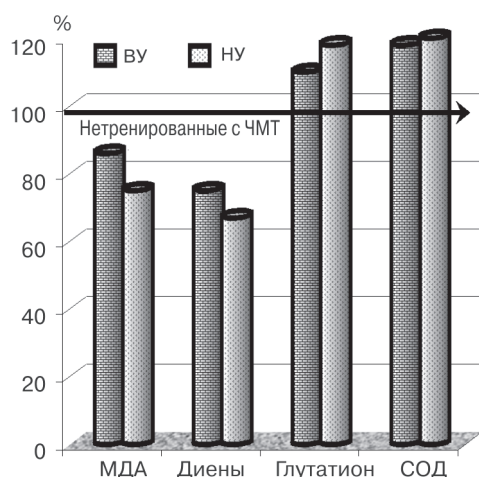


Рис. 2.

Влияние предварительной интервальной гипоксической тренировки в сочетании с бемитилом на процессы перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных систем в головном мозге крыс при черепно-мозговой травме



группе нетренированных животных с черепно-мозговой травмой (рис. 2). Содержание диеновых конъюгатов в мозге тренированных с бемитилом высокоустойчивых крыс было на 25%, а низкоустойчивых — на 33% меньше, чем в контроле ($p < 0,05$). Содержание малонового диальдегида достоверно меньше на 14% в мозге высокоустойчивых крыс и на 24% в мозге низкоустойчивых крыс. У предварительно тренированных с бемитилом животных содержание восстановленного глутатиона было выше в мозге высокоустойчивых крыс на 10% и низкоустойчивых на 18%, чем в контроле ($p < 0,05$). Активность супероксиддисмутазы достоверно превосходила контрольный уровень в мозге высокоустойчивых крыс на 19%, низкоустойчивых — на 20%.

Таким образом, приведенные данные позволяют сделать ряд выводов. Разработанный режим тренировки к прерывистой гипоксии формирует в тканях головного мозга высокоустойчивых и низ-

коустойчивых к гипоксии крыс адекватный условиям воздействия метаболический ответ. В то же время активность антиоксидантных систем на фоне тренировки у животных ниже, чем у интактных крыс. Бемитил усиливает адаптивные эффекты импульсной тренировки к гипоксии и его позитивные эффекты проявляются более выражено у низкоустойчивых к гипоксии особей, что способствует увеличению доли высокоустойчивых к гипоксии особей в общей популяции животных. Бемитил следует рассматривать в качестве эффективного адаптогена для повышения индивидуальной устойчивости организма к свободнорадикальным процессам гипоксического генеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адаптация к периодической гипоксии в терапии и профилактике. М.: Наука, 1989. 70 с.
2. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека. // Лаб. дело. 1983. № 10. С. 30–33.
3. Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Бемитил в качестве антиоксидантного средства при активации перекисного окисления липидов гипоксическим фактором: Методические рекомендации для врачей. СПб., 2002. 21 с.
4. Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Молекулярная фармакология антигипоксантов. СПб.: Н-Л, 2004. 368 с.
5. Зурдинов А.З. Фармакологическая коррекция резистентности организма к гипоксии. // Здоровоохр. Киргизии. 1988. № 3. С. 26–30.
6. Колчинская А.З., Цыганова Т.Н., Остапенко Л.А. Нормобарическая интервальная гипоксическая тренировка в медицине и спорте: Руководство для врачей. М.: Медицина, 2003. 408 с.
7. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М.И. Прохоровой. Л., 1982. 272 с.
8. Проmysлов М.Ш. Обмен веществ в мозге и его регуляция при черепно-мозговой травме. М.: Медицина, 1984. 88 с.
9. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. М.: Наука, 1977.