

УДК 57.08: 615.835.14:612.181.5:615

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ПРОГНОЗИРОВАНИЮ ПОВЫШЕНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМА К ТЯЖЕЛЫМ ГИПОКСИЧЕСКИМ / ИШЕМИЧЕСКИМ НАГРУЗКАМ

Е.И. Захарова¹, З.И. Сторожева², М.Ю. Монаков¹, А.М. Дудченко¹

¹ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

² Федеральный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии, Москва, Россия

Для повышения устойчивости к гипоксическому стрессу все больший интерес представляет гипоксическое/ ишемическое прекондиционирование разных органов и тканей или организма в целом [1–7]. Ранее нами была показана выраженная индивидуальная вариабельность эффективности прекондиционирующего действия в популяции белых беспородных крыс (самцов) [8]). Очевидно, что низкая прекондиционирующая эффективность может быть критична в определенных клинических ситуациях. Поэтому оценка результатов прекондиционирования или их прогнозирование является важной клинической задачей. Однако способы ее прогнозирования до недавнего времени отсутствовали.

В экспериментах на крысах нами был найден один такой способ – выявлена устойчивая корреляция между эффективностью прекондиционирующего действия однократного сеанса умеренной гипобарической гипоксии (ГБГ, 10–11 % O₂, 60 мин), которая определялась по времени до наступления апное (Т) в условиях тяжелой гипобарической гипоксии (ТГБГ, 4.5 % O₂), и предстимульным торможением (ПСТ, РРІ в английской транскрипции) в модели акустической стартл-реакции [9], ПСТ-Т тест. ПСТ является достаточно распространенным диагностическим показателем в нейробиологии, особенно в психопатологии, как в экспериментальной нейробиологии, так и в медицинской практике [10, 11], однако в проблеме гипоксического прекондиционирования не использовался (патент РФ № 2571603). Наши дальнейшие эксперименты с ПСТ-Т тестом только подтверждают полученную закономерность (Табл. 1).

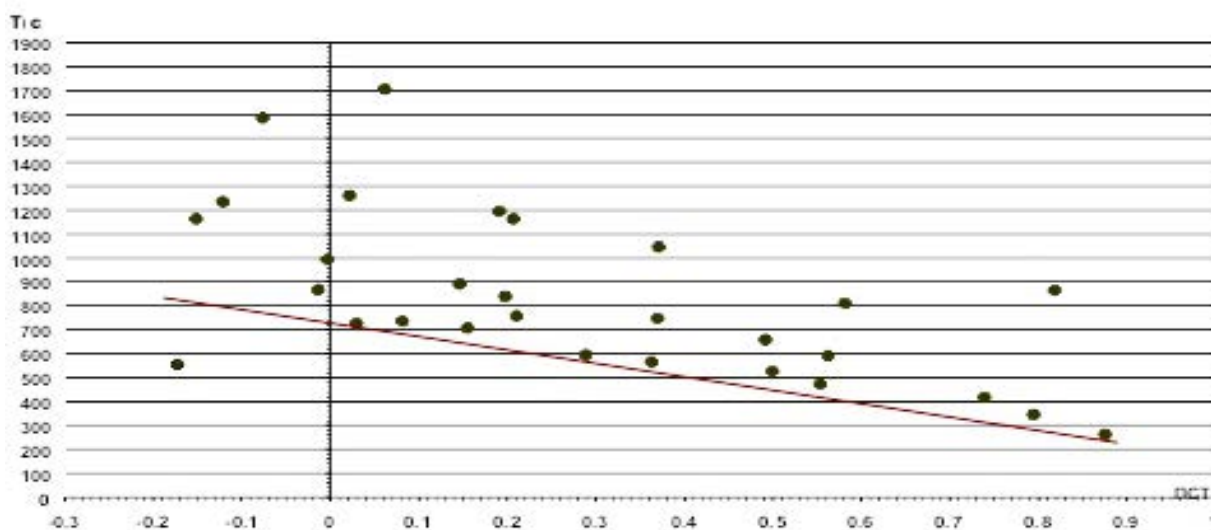
С помощью ПСТ-Т теста стало возможным прогнозировать эффективность прекондиционирующего действия ГБГ (Рис. 1) и изучать механизмы гипоксического прекондиционирования, в том числе молекулярные мишени повышения его эффективности. С этой целью мы исследовали влияние агониста холинергических никотиновых рецепторов (нХР) альфа 7 типа PNU-282987 (PNU) на эффективность ГБГ. По данным литературы, в механизмы гипоксического/ ишемического прекондиционирования разных органов вовлечены нХР и наиболее убедительно это показано для нХР альфа 7 подтипа [12–16].

Таблица 1. Устойчивость зависимости эффективности прекондиционирующего действия ГБГ от индивидуальных значений ПСТ в ПСТ-Т тесте

№ экспериментальных серий	n	r	P
I	18	-0.711	<0.001
I + II	22	-0.561	<0.01
I + II + III	29	-0.637	<0.001

Обозначения. Экспериментальные серии пронумерованы римскими цифрами в хронологической последовательности; n, количество вариант; r, корреляционный критерий Пирсона; P, уровень вероятности

В наших фармакологических экспериментах PNU вводили внутривенно в диапазоне доз от 26 до 12000 нмоль/ кг, а его растворитель диметилсульфоксид (ДМСО) в концентрации 2–3 %. Препараты вводили с таким расчетом, чтобы максимальная концентрация PNU в мозге (которая достигается через 40–60 мин после системного введения [17, 18]) совпадала с интервалом 20–30 мин от начала гипоксической тренировки. Условия оптимального взаимодействия PNU и ГБГ были подобраны эмпирически. Контрольной группе крыс вводили физиологический раствор в том же режиме. Через 4 мин окончания ГБГ животных подвергали ТГБГ и определяли значения Т.



Обозначения. Маркеры обозначают распределение индивидуальных значений Т (в секундах, с) в соответствии со значениями ПСТ у белых беспородных крыс самцов (n = 29). Значения ПСТ (ось абсцисс) выражены для построения графика в десятичных цифрах, эквивалентных ПСТ-процентам. Под массивом значений Т проведена линия, по которой можно прогнозировать минимальные значения Т у индивидуумов означенной популяции крыс в зависимости от их ПСТ. Исключение составила одна точка (3.4 % от общего массива) – 554 с вместо ожидаемых ~875 с или больше.

Действие PNU во всех дозах оказалось десенсибилизирующим (ингибирующим) альфа 7 нХР [19, 20], а ДМСО – антихолинэстеразным (возбуждающим холинергическую активность) [21] (Рис. 2). И PNU, и ДМСО проявили на ГБГ эффекты, направленность которых менялась на противоположную на границе ПСТ ~ 36–40 %. В наших исследованиях ДМСО у крыс в подгруппе со значениями ПСТ > 40 % (n = 7) потенцировал эффективность ГБГ, а со значениями ПСТ < 40 % ингибировал ее PNU (в растворе ДМСО 2–3 %) снижал эффективность действия растворителя в обеих подгруппах животных в дозах 26 и 260 нмоль/ кг (соответственно, n = 14, 15, Рис. 2, В). Когда мы применили 5 доз PNU в диапазоне 1200 – 12000 нмоль/ кг, рассчитывая получить его активирующий эффект как агониста, то и в этих дозах его действие на альфа 7 нХР было десенсибилизирующим, противоположным действию ДМСО в обеих подгруппах животных (соответственно, n = 12, 13). При этом в диапазоне более высоких доз PNU преодолел противоположную направленность действия растворителя – повысил эффективность ГБГ в подгруппе крыс с ПСТ < 0,40 и снизил ее в подгруппе крыс с ПСТ > 0,40 (Рис. 2-Г).

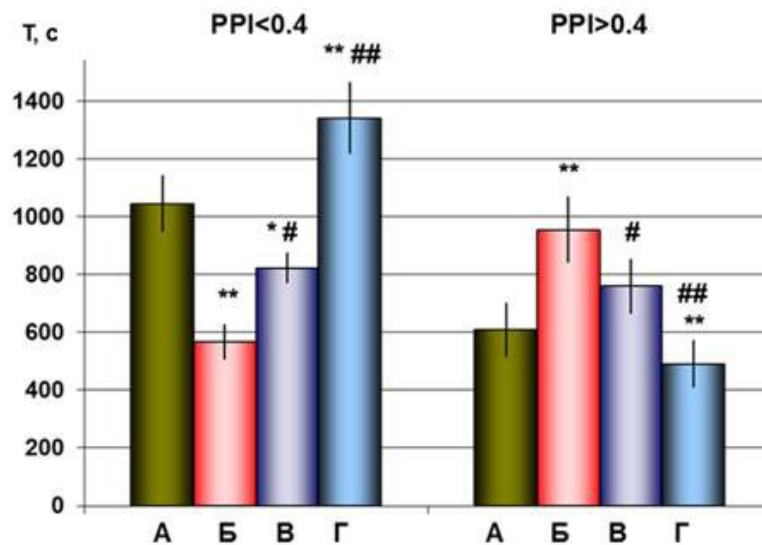


Рис. 2. Значения Т в группах Контроля, ДМСО и PNU с низкими и высокими дозами. Обозначения. Представлены средние значения Т ($M \pm m$) в подгруппах с PPI (ПСТ) < 0.4 (< 40 %) и PPI > 0,4 (> 40 %) групп контроля (А), ДМСО (Б), PNU в дозах 26 и 260 нмолей/ кг (В) и в дозах 1200 – 12000 нмолей/ кг (Г). Звездочки, отличие значений Т в подгруппе от соответствующей подгруппы контроля; решетки, отличие значений Т в подгруппе PNU от соответствующей подгруппы ДМСО; один знак, $P < 0,05$, два знака, $P < 0.025$. Точный метод Фишера. ($n = 15$, Рис. 2, Б).

Из полученных данных следует, что применение ПСТ-Т теста позволило выявить два противоположно направленных ПСТ-зависимых холинергических механизма гипоксического preconditionирования и что в оба механизма вовлечены как PNU, так и ДМСО.

Таким образом, на базе ПСТ разработана новая технология прогнозирования эффективности гипоксического preconditionирования, а также показана перспектива фармакологической модуляции preconditionирующих эффектов с помощью DMSO и PNU.

Полученные результаты о разнонаправленном действии агониста альфа 7 нХР и его растворителя ДМСО на изменение устойчивости организма к дефициту кислорода у индивидуумов с различными значениями ПСТ могут быть использованы при реализации принципов персонализированной медицины. Например, назначение агонистов альфа 7 нХР пациентам с низкими показателями ПСТ и страдающим хроническими нарушениями кровообращения будет, по-видимому, позитивно сказываться на переносимости кислородного голодания. И, наоборот, аналогичная терапия у пациентов с высоким ПСТ будет провоцировать снижение устойчивости к дефициту кислорода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hawaleshka A and Jacobsohn E. (1998) Ischaemic Preconditioning: Mechanisms and Potential Clinical Applications. *Can J Anesth*, 45: 670–682. <https://doi.org/10.1007/BF03012100>
2. Lai IR, Chang KJ, Chen CF, Tsai HW. (2006) Transient Limb Ischemia Induces
3. Remote Preconditioning in Liver Among Rats: The Protective Role of Heme Oxygenase-1. *Transplantation*, 81: 1311–1317. <https://doi.org/10.1097/01.tp.0000203555.14546.63>
4. Рубрикова Е.А., Самойлов М.О. (2016) Современная теория о церебральных механизмах гипоксического пре- и посткондиционирования *Успехи Физиол Наук*, 47(4): 3–17
5. Li S, Hafeez A, Noorulla F, Geng X, Shao G, Ren C, Lu G, Zhao H, Ding Y, Ji X. (2017) Preconditioning in neuroprotection: From hypoxia to ischemia *Prog Neurobiol*, 157:79–91. doi: 10.1016/j.pneurobio.2017.01.001.
6. Livingston MJ, Wang J, Zhou J, Wu G, Ganley IG, Hill JA, Yin XM, Dong Z (2019)
7. Clearance of damaged mitochondria via mitophagy is important to the protective effect of ischemic preconditioning in kidneys. *Autophagy*, 22:1–21. doi: 10.1080/15548627.2019.1615822. [Epub ahead of print]

9. Schreiber T, Salhöfer L, Quinting T, Fandrey J. (2019) Things get broken: the hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylases in ischemic heart disease. *Basic Res Cardiol*, 114(3): 16. doi: 10.1007/s00395-019-0725-2
10. Shojaei F, Rahmati S, Banitalebi Dehkordi M. (2019) A review on different methods to increase the efficiency of mesenchymal stem cell-based wound therapy. *Wound Repair Regen*. doi: 10.1111/wrr.12749. [Epub ahead of print]
11. Zakharova EI, Storozheva ZI, Proshin AT, Monakov MYu, Dudchenko AM. (2018) The Acoustic Sensorimotor Gating Predicts the Efficiency of Hypoxic Preconditioning. Participation of the Cholinergic System in This Phenomenon. *J Biomedical Science and Engineering*, 11(1): 10–25. DOI: 10.4236/jbise.2018.111002
12. Певцов ЕФ, Сторожева ЗИ, Прошин АТ, Певцова ЕИ. Аппаратно-программный комплекс для экспериментальных исследований акустической стартл – реакции у лабораторных грызунов (2015) *Бюлл Эксперим Биол и Мед*, 160(10): 403–407.
13. Storozheva ZI, Kirenskaya AV, Novototsky-Vlasov VY, Telesheva KY, Pletnikov M. (2016) Startle Modification and P50 Gating in Schizophrenia Patients and Controls: Russian Population. *Spanish J Psychol*, 19: E8. <https://doi.org/10.1017/sjp.2016.1>
14. Swerdlow NR, Braff DL, Geyer MA. (2016) Sensorimotor Gating of the Startle Reflex: What We Said 25 Years Ago, What Has Happened Since Then, and What Comes Next. *J Psychopharmacology*, 30: 1072–1081. <https://doi.org/10.1177/0269881116661075>
15. van Rensburg R, Errington DR, Ennaceur A, Lees G, Obrenovitch TP, Chazot PL. (2009) A New Model for the Study of High-K(+) – Induced Preconditioning in Cultured Neurons: Role of N-methyl-D-aspartate and Alpha7 nicotinic Acetylcholine Receptors. *J Neurosci Meth*, 177: 311–316. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2008.10.012>
16. Wang Q, Wang F, Li X, Yang Q, Li X, Xu N, Huang Y, Zhang Q, Gou X, Chen S, Xiong L. (2012) Electroacupuncture Pretreatment Attenuates Cerebral Ischemic Injury through $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor-Mediated Inhibition of High-Mobility Group Box 1 Release in Rats. *J Neuroinflammation*, 26: 9–24. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-24>
17. Jiang Y, Li L, Tan X, Liu B, Zhang Y, Li C. (2015) miR-210 Mediates Vagus Nerve Stimulation-Induced Antioxidant Stress and Anti-Apoptosis Reactions Following Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *J Neurochem*, 134: 173–181. <https://doi.org/10.1111/jnc.13097>
18. Sun F, Johnson SR, Jin K, Uteshev VV. (2017) Boosting Endogenous Resistance of Brain to Ischemia. *Mol Neurobiol*, 54, 2045–2059. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9796-3>
19. Buchholz B, Kelly J, Muñoz M, Bernaténé EA, Méndez Diodati N, González Maglio DH, Dominici FP, Gelpi RJ. (2018) Vagal stimulation mimics preconditioning and postconditioning of ischemic myocardium in mice by activating different protection mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 314(6): H1289-H1297. doi: 10.1152/ajpheart.00286.2017.
20. Stoiljkovic M, Leventhal L, Chen A, Chen T, Driscoll R, Flood D, Hodgdon H, Hurst R, Nagy D, Piser T, Tang C, Townsend M, Tu Z, Bertrand D, Koenig G, Hajos M. (2015) Concentration-Response Relationship of the $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonist FRM-17874 across Multiple in Vitro and inVivo Assays. *Biochem Pharmacol*, 97: 576–589. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.07.006>
21. Stoiljkovic M, Kelley C, Nagy D, Leventhal L, Hajos M. (2016) Selective Activation of $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptors Augments Hippocampal Oscillations. *Neuropharmacology*, 110, 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.07.010>
22. Alkondon M, Pereiral EFR, Cartes WS, Maelicke A, Albuquerque EX. (1997) Choline Is a Selective Agonist of $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptors in the Rat Brain Neurons. *Eur J Neurosci*, 9, 2734–2742. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1997.tb01702.x>
23. Hajos M, Hurst RS, Hoffmann WE, Krause M, Wall TM, Higdon NR, Groppi VE. (2005) The Selective $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonist PNU-282987 [N-[(3R) – 1-Azabicyclo[2.2.2] oct-3-yl] 4-chlorobenzamide hydrochloride] Enhances GABAergic Synaptic Activity in Brain Slices and Restores Auditory Gating Deficits in Anesthetized Rats. *J Pharmacol Experim Ther*, 312, 1213–1222. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.076968>
24. Sams JrWM and Carroll NV. (1966) Cholinesterase Inhibitory Property of Dimethyl Sulphoxide. *Nature*, 212, 405. <https://doi.org/10.1038/212405a0>