

Оценка адаптационных свойств ксенона

Шветский Филипп Михайлович

Кандидат медицинских наук врач анестезиолог – реаниматолог Госпиталь для ветеранов войн №2 города Москвы

Резюме

Исследование влияния ксеноно-кислородной смеси на динамику эндогенных биорегуляторов оценивали до и после однократной ингаляции ксеноно-кислородной смесью и после серии ингаляций, которые проводили однократно ежедневно в течении трех дней. Методом «АДИМУСТАТ» измеряли уровни антител к серотонину, гистамину, дофамину, орфанину, β-эндорфину, ангиотензину, глутамату, гамма-аминомасляной кислоте в сыворотке крови человека.

Объектом исследования являлись 20 пациентов с диагнозом новая коронавирусная инфекция, в отделении реанимации и интенсивной терапии инфекционного стационара, средний возраст пациентов 73,8 лет.

Необходима длительная экспозиция ксеноно-кислородной смеси и увеличение кратности и длительности воздействия ксенона на организм для достижения устойчивого эффекта толерантной адаптации. С помощью измерения уровня естественных антител, отражающих состояние системы эндогенных биорегуляторов, можно решить проблему оценки адаптационных резервов организма, в том числе к гипоксии за счет включения в комплекс лечения ксеноно-кислородной смеси.

Введение

Иммунная система здорового человека может продуцировать антитела к самым разным антигенам собственного организма - это естественные антитела. Совокупность всех е-антител отражает и регулирует индивидуальные особенности антигенного (молекулярного) состава организма и биохимических превращений, сопровождающих его деятельность. Развитие патологии, либо попадание организма в экстремальные условия обязательно сопровождается изменениями в продукции регуляторов соответствующих систем. Это неизбежно приводит к изменению синтеза и содержания в крови е-антител, соответствующей специфичности. Иммунная система запоминает и отражает органные, тканевые и общеорганизменные перестройки. В результате происходят количественные изменения репертуаров синтезируемых и секретируемых в кровотоке е-антител. Метод оценивает ресурсное состояние организма, показатели отражают состояние различных биохимических систем регуляции гомеостаза. Кроме того, уровень антител, в отличие от быстрых колебаний концентраций самих биорегуляторов, медленнее меняется в крови и обладает накопительным эффектом. Этот факт позволяет отслеживать начало патологических изменений во всех

эмоционально-физических и иммунологических сферах организма человека, контролируя течение процесса лечения. А также, дать заключение о начале момента истощения адаптационных и психофизиологических резервов [16].

Установлено, что Хе оказывает тормозящее действие на NMDA рецепторы, слабо воздействует на ГАМК рецепторы, что косвенно подтверждается исследованиями спектрального индекса электроэнцефалограммы [1, 2]. Ксенон является антагонистом NMDA-рецепторов [3], который конкурентно связывается с центром, связывающим ко-агонист NMDA-рецепторов, глицин [4], взаимодействуя с ароматическим кольцом в составе фенилаланина 758 [5]. Ингибирование NMDA-рецепторов путем связывания с ними ксенона обуславливает наркотические и нейропротективные свойства этого газа [4]. NMDA - рецепторы являются ионотропными рецепторами, активируемыми глутаматом [6]. Хотя глутамат является основным возбуждающим нейромедиатором в центральной нервной системе, его избыточная или постоянная активация им NMDA-рецепторов вызывает гибель нейронов в результате ишемии, например, при острых нарушениях мозгового кровообращения, вследствие повышения концентрации цитоплазматического кальция [7, 8]. Ксенон блокирует NMDA-рецепторы в местах связывания глицина [9] и подавляет эксайтотоксические каскады, реализуя, таким образом, свои нейропротективные свойства [10]. Кроме того, ксенон, как и другие средства для общей анестезии, обладает гипотермическим действием, что также способствует нейропротекции [11]. Гипотермия снижает эксайтотоксичность, уменьшая высвобождение глутамата и глицина, регулируя образование активных форм кислорода [12]. В работе Yamakura T., Harris R.A. [13] методом двухэлектродной техники «вольтаж-кламп» было оценено влияние N₂O и Хе на широкий спектр рекомбинантных рецепторов мозга, экспрессированных на ооцитах *Xenopus*: глициновые, ГАМК-рецепторы типа А и С, NMDA (N-methyl-D-aspartate)-рецепторы, AMPA (alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid)-рецепторы, рецепторы каината, 5-гидрокситриптаминовые (серотониновые) и N-ацетилхолиновые рецепторы (N-АХР). Было выявлено сходство действия N₂O (0,58 атм) и ксенона (0,46 атм). Авторы отметили, что наиболее вероятными мишенями ингибирующего действия ксенона являются N-АХР (бета-2-субъединица) и NMDA-рецепторы. При этом активность серотониновых рецепторов подавляется, а глициновых и ГАМК-А-рецепторов - потенцируется ксеноном слабее, чем изофлураном в эквивалентной концентрации (рисунок 1).

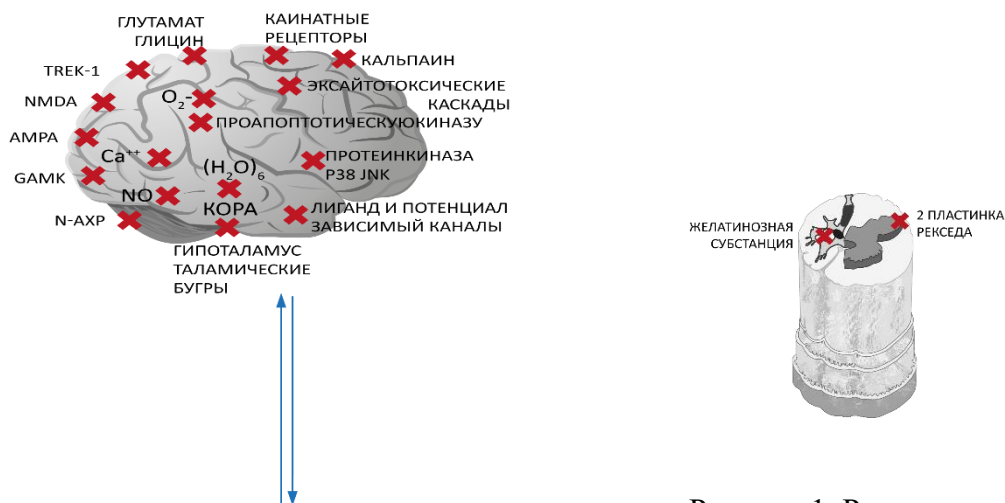


Рисунок 1. Рецепторные механизмы действия

ксенона (рисунок коллектива авторов)

Цель исследования

Оценить с помощью иммунохимического метода адаптационные и нейропротективные эффекты ингаляции ксеноно-кислородной смесью в условиях гипоксии вследствие респираторного дистресс синдрома у пациентов с вирусной пневмонией.

Материалы и методы

Всем пациентам назначалась базовая интенсивная терапия согласно рекомендациям по лечению вирусной пневмонии, вызванной коронавирусной инфекцией в объеме: антибактериальная терапия, антикоагулянтная терапия, антисекреторная терапия, гормональная терапия, инфузионная терапия, методы экстракорпоральной детоксикации в отделении реанимации и интенсивной терапии (плазмаобмен, гемодиализация). Пациенты были в тяжелом состоянии, по оценке шкалам SOFA-3, NEWS-4, MC KT-3 (таблица 1).

Таблица 1. Характеристика тяжести состояния пациентов.

| Возраст | SOFA | NEWS | MC KT | Лейкоциты | Тромбоциты | С-РБ |
|---------------------|------------|-------------|--------------|--|---------------------------------------|---------------------------|
| 78 лет [73,8-83] | 3 [2-3] | 4 [4--4] | 3 [2,4-3] | 8,35 x 10 ⁹ /л [7,4-9,4] | 177 x 10 ⁹ /л [177-218] | 66,25 мг/л [61,5-89,6] |

Исследование рандомизированное, слепое.

Методика проведения ингаляции ксеноно-кислородной смесью включала в себя трех минутную экспозицию подачи газа индивидуальным ингалятором по закрытому контуру в соотношении ксенона с кислородом 70/30 процентов соответственно, разработанным нами оборудованием, баллончиком объемом 150 мл из нержавеющей стали и баллончиком из алюминия объемом 600 мл с игольчатым регулятором подачи смеси по закрытому контуру,

включающему лицевую маску, тройник, бактерицидный фильтр, дыхательный резервуар.

Методика иммунохимического метода определения антител к регуляторам адаптации при гипоксии осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) [14]. ИФА выполняли на полистирольных планшетах фирмы “Nunc” (Дания). Учет результатов ИФА проводили на спектрофотометре с вертикальным ходом луча фирмы “Thermo” (Финляндия) при длине волны 450 нм. Иммунохимическое исследование методом ИФА включало следующие этапы: 1) иммобилизацию комплекса синтетического антигена, состоящего из конъюгата-гаптена, производного β -эндорфина, орфанина, серотонина, дофамина, гистамина, ангиотензина, глутамата и ГАМК с полимерным носителем на полистирольном планшете; 2) связывание указанного выше антигена со специфическими антителами анализируемого образца; 3) выявление образовавшегося иммунного комплекса с помощью антивидовых антител, меченных пероксидазой хрена; 4) измерение ферментативной активности в образовавшемся иммунном комплексе. Для проведения ИФА использовали “Набор реагентов для иммуноферментного определения антител к эндогенным биорегуляторам в сыворотке крови "АДИМУСТАТ®" (ФСР 2010/08813) (ООО “Дианарк”, Россия). Результаты измерения в ИФА оптической плотности (ОП) выражают в условных единицах (KOD450) и рассчитывают по формуле $KOD450 = \frac{ОП \text{ анал.обр.} - ОП \text{ контр.обр.}}{ОП \text{ контр.обр.}}$. Синтез конъюгированных антигенов и условия проведения анализа выполняли в соответствии с разработанной нами ранее схемой [15]. Результаты исследований оценивали с использованием средней арифметической величины (M), их стандартного отклонения (s). Анализ различий показателей, измеренных в процессе ингаляций, проводили при помощи непарного критерия Вилкоксона.

Однократная ингаляция ксеноно-кислородной смесью проведена пациентам, доставленным на долечивание в стационар третьего уровня помощи после двухнедельного лечения в первичном медицинском учреждении.



Рисунок 2. Проведение ингаляции ксеноно-кислородной смесью.

Результаты

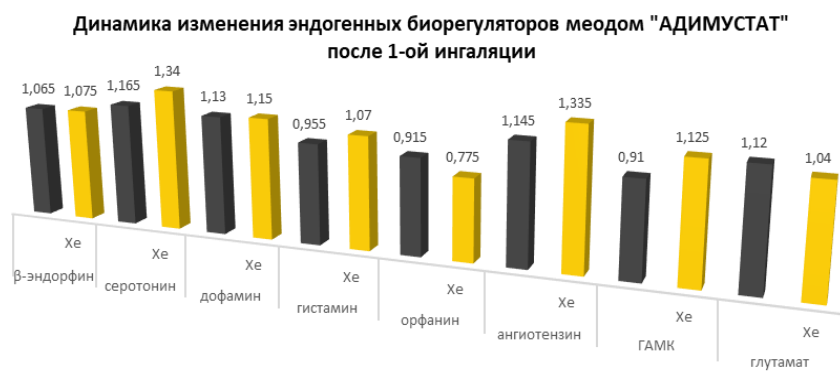


Рисунок 3. Динамика изменения эндогенный биорегуляторов после 1-ой ингаляции.



Рисунок 4. Динамика изменения эндогенный биорегуляторов после серии ингаляций.

В нашем исследовании мы не получили достоверного изменения показателей ни в одном случае. Во-первых, при анализе исходных значений, пациенты находились в стадии истощения адаптационных возможностей организма, после первой ингаляции (рисунок 3, таблица 2), мы отметили недостоверное увеличение серотонина, от содержания которого в центральной нервной системе зависит степень выраженности болеутоляющего действия морфина и других наркотических анальгетиков, полагаем также, что анальгетическое действие серотонина может опосредоваться эндогенными опиатами, поскольку он способствует высвобождению бета-эндорфина из клеток передней доли гипофиза, гистамина, который наряду с серотином и простагландинами, раздражая рецепторы в тканях, играет роль в возникновении болевой импульсации из места повреждения или воспаления, ангиотензина, олигопептидного гормона, помимо известной роли в контроле над артериальным давлением и перфузией, предположительно влияет на восприятие боли, так же отвечает за адаптацию сердечно-сосудистой системы и головного мозга к гипоксии, предполагает развитие функциональных или структурных изменений, которые должны обеспечить наиболее эффективное и экономное расходование энергии при мышечном сокращении,

гаммааминомасляная кислоты, которая снимает беспокойство, уменьшает психо-эмоциональный компонент дыхательной недостаточности, вызывает расслабление и улучшает сон, помогает вызвать релаксацию за счет увеличения общей и парасимпатической нервной деятельности, также поддерживает физиологическое регулирование функции гипофиза и контролирует секрецию гормона роста из гипофиза, дисфункция в ГАМК-эргической системе приводит к эмоциональным и психическим патологиям, включая подавленное состояние, депрессию, нарушение сна, снижение глутамата, который может оказывать мощное токсическое действие, вызывая судороги конечностей и амнезию. Все эти результаты после однократной ингаляции, могут говорить о возможном стремлении эндогенных биорегуляторных систем к антистрессорной активности и стимуляции резервов адаптации организма к гипоксии головного мозга и стимуляции церебропротекции.

После серии из трех ингаляций (рисунок 4, таблица 3) все показатели удерживались в пределах значений после первой ингаляции, что может говорить о возможной стабилизации функционирования эндогенных биорегуляторных систем и иммунного статуса при патологическом процессе.

Выводы

По-нашему мнению, исходя из полученных результатов, при тяжелом патологическом состоянии организма, необходима более длительная экспозиция ксеноно-кислородной смеси и увеличение кратности и длительности воздействия ксенона на организм для достижения устойчивого эффекта толерантной адаптации на уровне эндогенных биорегуляторных систем и достоверного различия данных.

Во-вторых, уровень антител, в отличие от быстрых колебаний концентраций самих биорегуляторов, медленнее меняется в крови и обладает накопительным эффектом. Этот факт позволяет отслеживать начало патологических изменений во всех эмоционально-физических и иммунологических сферах организма человека, контролируя течение процесса лечения, но в течении менее короткого временного отрезка.

В-третьих, можно заключить, что известная ситуационная лабильность в уровнях эндогенных биорегуляторов указанных систем может отражаться и хорошо сохраняться в изменении иммунологических показателей, связанных со свойствами е-Ат, которые длительное время циркулируют в кровотоке. Именно с помощью аналитического измерения уровня естественных антител, отражающих состояние системы эндогенных биорегуляторов, можно решить проблему оценки адаптационных резервов организма, в том числе к гипоксии за счет включения в комплекс лечения ксеноно-кислородной смеси.

В дополнение к данному исследованию, мы оценивали динамику митохондриальных ферментов у 20 добровольцев основной группы до и после ингаляции ксеноно-кислородной смесью.

При исследовании динамики активности митохондриальных ферментов получены результаты увеличения оптической плотности гранул и увеличения периметра и разнородности гранул по оптической плотности после ингаляции ксеноном. Отмечено повышение активности сукцинатдегидрогеназы через три часа после первой процедуры в виде увеличения количества гранул, их площади, оптической плотности и разнородности гранул по оптической плотности. Оценивали динамику ферментов сукцинатдегидрогеназы и НАДН-дегидрогеназного комплекса.

Сукцинатдегидрогеназа одновременно участвует в цикле трикарбоновых кислот, окисляя сукцинат до фумарата, и переносе электронов, восстанавливая убихинон, представляя собой II белковый комплекс электронтранспортной цепи. Таким образом, сукцинатдегидрогеназа является одним из ключевых звеньев в процессе энергообеспечения клетки.

НАДН-дегидрогеназный комплекс, также называемый комплекс I или НАДН-убихинон-оксидоредуктаза-первый мультибелковый комплекс дыхательной цепи переноса электронов. Множество копий комплекса расположены в мембранах прокариотических организмов, способных к кислородному дыханию и внутренних мембранах митохондрий эукариотических клеток. По отношению к белкам человека комплекс I часто называют НАДН-дегидрогеназой. Этот комплекс играет центральную роль в процессах клеточного дыхания и окислительного фосфорилирования: почти 40 % протонного градиента для синтеза АТФ создаются именно этим комплексом (таблица, рисунок).

Таким образом во всех случаях мы получили увеличение активности митохондриальных ферментов, свидетельствующие об улучшении функции митохондрий и оптимизации энергетического обмена.

Нами изучено влияние клинко-морфологического фактора на состояние биоэнергетики лимфоцитов периферической крови при дистрессе у здоровых добровольцев при выполнении интенсивной физической нагрузки до и после масочной ингаляции ксеноно-кислородной смеси. Выявлено, что при ингаляциях ксеноно-кислородной смесью увеличиваются все показатели биоэнергетики клетки, число работающих митохондрий, их периметр, оптическая плотность продукта реакции. Ксеноно-кислородные ингаляции после физической нагрузки приводят к увеличению оптической плотности гранул и увеличению периметра и разнородности гранул по оптической плотности. Отмечено повышение активности сукцинатдегидрогеназы через три часа после первой процедуры в виде увеличения количества гранул, их площади, оптической плотности и разнородности гранул по оптической

плотности. С учетом полученных данных, считаем целесообразным продолжить исследования в данном направлении и акцентировать внимание, как на оптическую структуру митохондрий, так и на активность митохондриальных ферментов.

Список литературы

1. Лихванцев В.В. Электроэнцефалограмма, информационная насыщенность электроэнцефалограммы и биспектральный индекс при анестезии ксеноном во время лапароскопических операций / В.В. Лихванцев, А.Г. Воловик, О.В. Петров и др. // Анестезиол. и реаниматол. – 2002. - № 3. - С. 36-39
2. Сальников, П.С. Сравнительная оценка «церебральной оксиметрии» при анестезии ксеноном и другими анестетиками / П.С. Сальников, Н.Е. Буров // Анестезиология и реаниматология. – 2003. - № 3. – С. 35-37
3. Franks N.P., Dickinson R., De Sousa S. et al. How does xenon produce anaesthesia // Nature. - 1998. – Vol. 396. – P. 324–324
4. Dickinson, R. Competitive inhibition at the glycine site of the N-methyl-d-aspartate receptor by the anesthetics xenon and isoflurane / R. Dickinson, B.K. Peterson, P. Banks et al.// Anesthesiology. - 2007. – Vol. 107. - P. 756–767
5. Armstrong, S.P. Identification of Two mutations (F758W and F758Y) in the N-methyl-D-aspartate receptor glycine-binding site that selectively prevent competitive inhibition by xenon without affecting glycine binding / S.P. Armstrong, P.J. Banks, McKittrick T.J. et al. // Anesthesiology. - 2012. - Vol.117. - P. 38–47
6. Li, M. Calcium-permeable ion channels involved in glutamate receptor-independent ischemic brain injury / M. Li, K. Inoue, H. Si, Z. Xiong// Acta Pharmacol. Sin. - 2011. – Vol.32. – P. 734–740.
7. Hardingham, G.E. Coupling of the NMDA receptor to neuroprotective and neurodestructive events / G.E. Hardingham // Biochem. Soc. Trans. - 2009. – Vol.37. – P. 1147–1160.
8. Fatokun, A.A. Adenosine receptor ligands protect against a combination of apoptotic and necrotic cell death in cerebellar granule neurons / A.A. Fatokun, T.W. Stone, R.A. Smith // Exp. Brain Res. - 2008. – Vol.186. - P. 151–160.
9. Стряпко, Н.В. Адаптационный эффект многократного применения ксенона. / Н.В. Стряпко, Т.Г. Сазонова, В.И. Потиевская, А.А. Хайруллина, И.Б. Вдовина, А.Н. Куликов, Ю.В. Архипенко, И.В. Молчанов // Общая реаниматология. - 2014. – Т.10. - №2. – С. 50-56.
10. Abraini, J.H. Potentially neuroprotective and therapeutic properties of nitrous oxide and xenon / J. H. Abraini, H.N. David, M. Lemaire // Ann N Y Acad. Sci. - 2005. – Vol.1053. – P.

289–300.

11. Abbraini, J.H. Potentially neuroprotective and therapeutic properties of nitrous oxide and xenon / J. H. Abbraini, H.N. David, M. Lemaire // *Ann N Y Acad. Sci.* - 2005. – Vol.1053. – P. 289–300.

12. Weng Y., Sun S. Therapeutic hypothermia after cardiac arrest in adults: mechanism of neuroprotection, phases of hypothermia, and methods of cooling / Y. Weng, S. Sun // *Crit. Care Clin.* - 2012. – Vol.28. – P. 231–243.

13. Yamakura T. Effects of gaseous anesthetics nitrous oxide and xenon on ligandgated ion channels. Comparison with isoflurane and ethanol / T. Yamakura, R.A. Harris // *Anesthesiology.* - 2000. - Vol. 93, № 4.- P. 1095-1101.

14. Мягкова М.А., Петроченко С.Н., Левашова А.И. Оценка адаптационных возможностей организма на основе анализа естественных антител к эндогенным биорегуляторам // *Biomedical Chemistry: Research and Methods.* 2018. Т. 1. № 3. С. e00038.

15. Петроченко С.Н., Боброва З.В., Мягкова М.А. и др. Определение антител к эндогенным биорегуляторам для оценки функционального состояния здоровья спортсменов // *Клиническая лабораторная диагностики.* 2017. Т. 62. № 2. С. 346

16. Пальцев М.А., Полетаев А.Б., Сучков С.В. Аутоиммунитет и аутоиммунный синдром: границы нормы и патологии // *Вестник РАМН.* 2010. № 8. С. 1