

УДК 612.2.2

РЕЦЕПТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ НЕЙТРАЛЬНЫХ ГАЗОВ НА ПОГЛОЩЕНИЕ КИСЛОРОДА ОРГАНИЗМОМ

Ананьев В.Н.

*ГНЦ РФ «Институт медико-биологических проблем РАН»,
Москва, e-mail: noradrenalin1952@mail.ru*

В опытах крысы помещались в изолированную газонепроницаемую камеру, которая заполнялась воздухом и различными газовыми смесями нейтральных газов. С датчика кислорода напряжение преобразования подавалось на аналого-цифровой преобразователь (АЦП) и регистрировалось на компьютере. В работе изучены рецепторные механизмы действия блокады возбуждающих глутаматных рецепторов (NMDA) нембуталом и стимуляции тормозных ГАМК-рецепторов медазепамом на величину потребления кислорода организмом крысы в замкнутом пространстве на фоне дыхания воздухом и газовыми смесями, где вместо азота были газы аргон, криптон, ксенон. Аргон, криптон и ксенон уменьшают потребление кислорода организмом, и после их введения аргон, криптон, ксенон не уменьшают потребление кислорода. Это доказывает, что механизм действия аргона, криптона и ксенона на уменьшение потребления кислорода такой же, как у нембутала и медазепам. Исследования показали, что аргон, криптон, ксенон уменьшают потребление кислорода организмом животного за счет действия на NMDA и ГАМК-рецепторы. Физиологическим механизмом этого действия нейтральных газов является то, что нейтральные газы блокируют NMDA-рецепторы и усиливают ГАМК-эргическое торможение в нервной системе.

Ключевые слова: крысы, потребление кислорода, замкнутое пространство, кислород, азот, аргон, криптон, ксенон, нембутал, медазепам

RECEPTOR MECHANISMS OF NEUTRAL GAS IN OXYGEN CONSUMPTION

Anan'ev V.N.

*Institute for Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences,
Moscow, e-mail: noradrenalin1952@mail.ru*

In the experiments the rats were placed in an isolated gas-tight chamber which is filled with air and a different gas mixture of neutral gases. With the oxygen sensor voltage was applied to the conversion of analog -to-digital converter (ADC) and recorded on the computer. The work investigated the mechanisms of action receptor blockade of excitatory glutamate receptors (NMDA) nembutal and stimulate inhibitory GABA receptors medazepam the amount rat oxygen consumption in a confined space on a background of respiratory air and gas mixtures, where, instead of nitrogen gas was argon, krypton, xenon. Argon, krypton, xenon and reduce oxygen consumption. It is shown that Nembutal medazepam and significantly reduce oxygen consumption and after administration argon, krypton, xenon, oxygen consumption is not reduced. This proves that the action of argon, krypton and xenon on reducing the consumption of oxygen is the same as that of nembutal and medazepam. Studies have shown that argon, krypton, xenon reduces the oxygen consumption of animal due to the action on the NMDA and GABA receptors. The physiological mechanism of this action is that of neutral gas that neutral gases block NMDA- receptors and enhance GABA receptors inhibition of the nervous system.

Keywords: rat, oxygen consumption, an enclosed space, oxygen, nitrogen, argon, krypton, xenon, nembutal, medazepam

Глутамат является основным возбуждающим нейромедиатором в нервной системе млекопитающих [5, 7]. Гиперактивация NMDA-рецепторов вносит определенный вклад в судорожную активность и связанную с ней гибель нейронов, что также подтверждается большим количеством экспериментальных данных о выраженном противосудорожном эффекте антагонистов NMDA-рецепторов, проявляющемся на различных моделях судорог. Так, существуют указания на усиление антагонистами NMDA-рецепторов лечебного эффекта бензодиазепинов и барбитуратов при данных состояниях [2, 4].

NMDA-рецепторы присутствуют в большинстве нейронов ЦНС, таким образом, активация этих рецепторов лежит в основе большинства быстрых процессов передачи сигнала в ЦНС. В связи с этим активация

NMDA-рецепторов приводит к двум событиям: во-первых, деполяризации постсинаптической мембраны (обусловливается входом ионов Na^+ в клетку), и, во-вторых, активации Ca^{2+} -зависимых белков, включая кальмодулин-зависимые протеинкиназы, протеинкиназу C, фосфолипазу A₂, NO-синтазу и т.д. Таким образом, активация NMDA-рецепторов приводит к запуску как межклеточной сигнализации (деполяризация мембраны, долговременная потенциация), так и запуску внутриклеточных каскадов передачи сигнала. Реполаризация клеточной мембраны после активации NMDA-рецепторов происходит в основном за счет активности Na^+/K^+ -АТФазы, которая восстанавливает градиенты ионов Na^+ и K^+ . Между NMDA-рецепторами и Na^+/K^+ -АТФазы существует прямая функциональная связь [4].

L-глутамат является основным медиатором проведения возбуждения в синапсах нервной системы позвоночных. Идентифицированы множественные глутамат-рецепторы, которые, кроме участия в быстром проведении возбуждения, являются также критическим фактором в пластичности синапсов. Нарушения Ca^{2+} -проницаемости данных каналов приводят к ряду нейродегенеративных заболеваний, среди которых болезнь Паркинсона, паралич, эпилепсия.

Основными ингибиторными нейротрансмиттерами в ЦНС являются ГАМК и глицин. Они содержатся во вставочных нейронах, и благодаря им осуществляется пресинаптическая ингибиция в спинном мозге. ГАМК (гамма-аминомасляная кислота) синтезируется при декарбоксилировании глутамата. Активируемая через импульсы от подкорковых образований и коры мозжечка посредством ретикуло-, рубро- и вестибулоспинального трактов, ГАМК связывается с рецепторами постсинаптической мембраны. Различают 3 основных рецепторных сайта: ГАМК, бензодиазепиновый и барбитуратовый сайт. Особое значение имеют рецепторные области для связывания с бензодиазепинами и барбитуратами, причем бензодиазепины усиливают ГАМК-эргическую ингибицию на пресинаптические терминалы. Все основные эффекты бензодиазепинов – седативный, противотревожный, противосудорожный, мышечной релаксации и другие – осуществляются через ГАМК-А-рецепторы [2, 7]. Блокада NMDA-рецепторов приводит к снижению обмена веществ и наркозу. Стимуляция тормозных ГАМК-рецепторов успокаивает организм, снижает обмен веществ, но не вызывает наркоза. Применение препаратов, действующих на NMDA и ГАМК-рецепторы, осложняется тем, что к ним развивается быстро привыкание и зависимость, эти препараты очень долго выводятся из организма. Поэтому мы в наших исследованиях изучили свойство нейтральных газов снижать потребление кислорода организмом и доказали, что механизмом этого действия является блокада NMDA-рецепторов и возбуждение ГАМК-тормозных рецепторов.

Цели и задачи исследования – изучить рецепторные механизмы действия нейтральных газов (аргон, криптон, ксенон) на основе антагониста NMDA-рецептора нембутала и агониста бензодиазепинового рецептора медазепам [7].

Материалы и методы исследования

В опытах использовались лабораторные животные – крысы. Крыса помещалась в изолированную

газонепроницаемую камеру, которая имела штуцеры входа газа и выхода [1]. Камера заполнялась воздухом, воздух прокачивался воздушным насосом через датчики кислорода и опять возвращался в камеру. Таким образом, концентрация кислорода постепенно уменьшалась. С датчиков газа напряжение преобразования подавалось на аналого-цифровой преобразователь (АЦП) и вводилось и регистрировалось на компьютере. Частота записи измерения показаний была равна одной минуте. Для исследования брали газовые смеси – воздух (азота 80%, кислорода 20%), кислородно-ксеноновую (кислорода 20%, ксенона 80%), кислородно-аргоновую смесь (кислорода 20%, аргона 80%), кислородно-криптоновую смесь (кислорода 20%, криптона 80%). Выдыхаемый углекислый газ поглощался. Газовые смеси готовили по показаниям соответствующих датчиков газа. Изучалось влияние на потребление кислорода транквилизатора медазепам, механизм действия которого состоит в усилении ГАМК-эргического торможения [7]. Проводились опыты, когда на фоне медазепам давалось дыхание с аргоном, криптоном, ксеноном, что позволило выявить механизмы действия нейтральных газов.

Изучалось влияние на потребление кислорода барбитурата нембутала, механизм действия которого состоит в уменьшении тонуса возбуждающих NMDA рецепторов и в усилении ГАМК-эргического торможения [7]. Проводились опыты, когда на фоне нембутала давалось дыхание с аргоном, криптоном, ксеноном, что позволило выявить механизмы действия нейтральных газов.

Результаты исследования и их обсуждение

В опытах использовались крысы весом 400 ± 50 г. В контрольной группе и на фоне аргона проведено по 25 опытов.

Камера была изготовлена из стекла и имела объем 1850 мл. Поглощение кислорода в контроле (рис. 1) за 30 мин было $18,85 \pm 0,5$ мл/кг/мин. Поглощение кислорода в аргоне за 40 мин было $14,95 \pm 0,7$ мл/кг/мин. В аргоне уменьшилось потребление кислорода (рис. 1) на 26,7% (при $P < 0,05$). Время максимального выживания в аргоне увеличилось на 33,3% (при $P < 0,05$).

Для анализа действия криптона в опытах использовались крысы весом 400 ± 50 г. В контрольной группе ($n = 25$) на фоне криптона проведено 22 опыта. Камера 1850 мл. Поглощение кислорода в контроле за 30 мин было $18,85 \pm 0,5$ мл/кг/мин. Поглощение кислорода в криптоне за 55 мин было $10,87 \pm 1,3$ мл/кг/мин. В криптоне (рис. 2) уменьшилось потребление кислорода на 42,3%, или в 1,73 раза (при $P < 0,05$) по сравнению с контролем.

Время максимального выживания в криптоне увеличилось на 83,3%, или в 1,83 раза по сравнению с контролем (при $P < 0,05$).

Для анализа действия ксенона в опытах были задействованы крысы массой 400 ± 50 г. В контрольной группе ($n = 25$) на фоне ксенона проведено 15 опытов. Камера

1850 мл. Поглощение кислорода в контроле за 30 мин было $18,85 \pm 0,5$ мл/кг/мин. Поглощение кислорода в ксеноне за 105 мин было $5,875 \pm 1,1$ мл/кг/мин. В ксеноне (рис. 3) потребление кислорода составило 31% от контроля, это в 3,2 раза (при $P < 0,05$) меньше контроля. Время максимального выживания в ксеноне составило 350% от контроля, что в 3,5 раза больше по сравнению с контролем (при $P < 0,05$).

вило 31% от контроля, это в 3,2 раза (при $P < 0,05$) меньше контроля. Время максимального выживания в ксеноне составило 350% от контроля, что в 3,5 раза больше по сравнению с контролем (при $P < 0,05$).

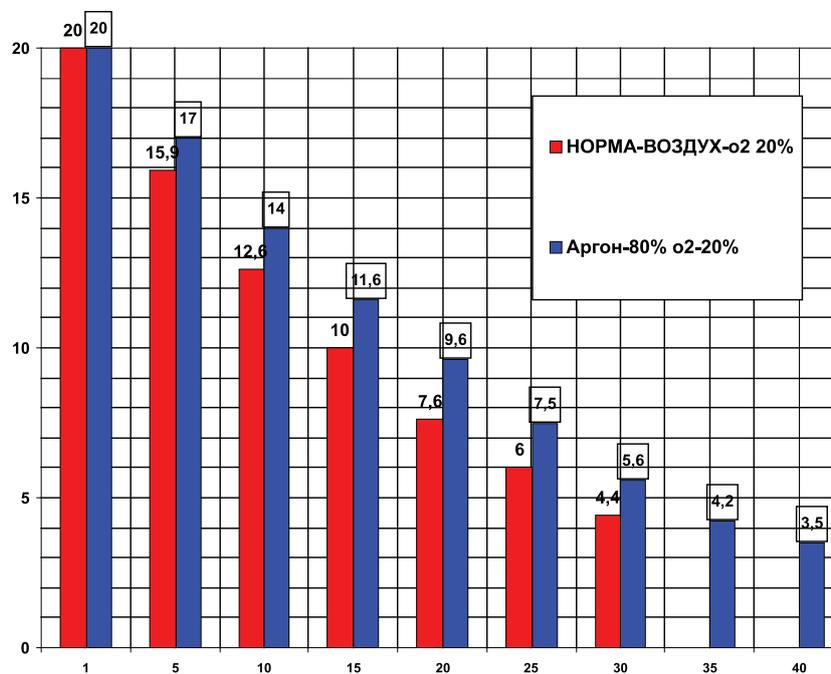


Рис. 1. Поглощение кислорода крысой в замкнутой камере в воздухе – первые столбики (азот 80%, кислород 20% – контроль) и в среде аргона – вторые столбики (аргон – 80%, кислород – 20%). По оси абсцисс: – время опыта в минутах. По оси ординат: – концентрация кислорода в процентах (%) в камере с крысой

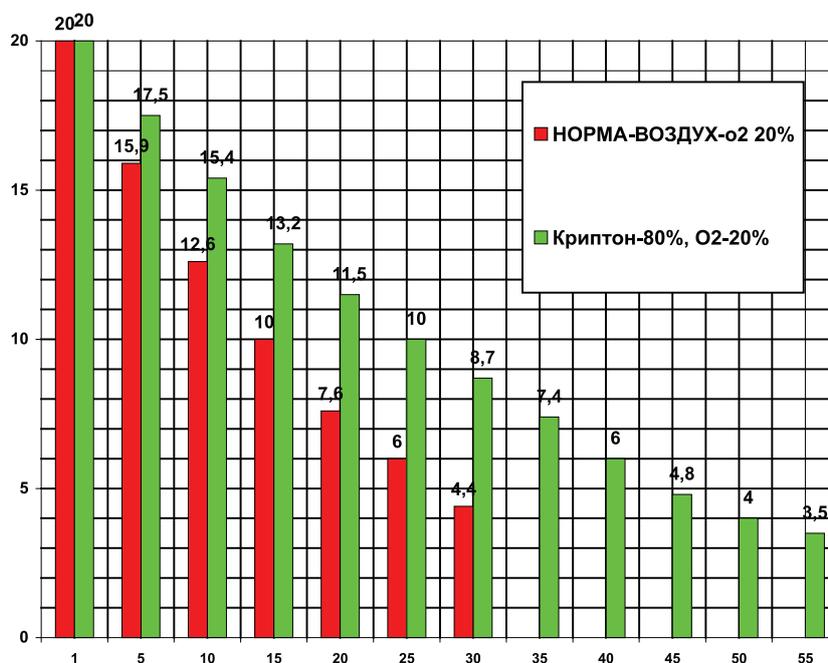


Рис. 2. Поглощение кислорода крысой в замкнутой камере в воздухе – первые столбики (азот 80%, кислород 20% – контроль) и в среде криптона (криптон – 80%, кислород – 20%). По оси абсцисс: – время опыта в минутах. По оси ординат: – концентрация кислорода в процентах (%) в камере с крысой

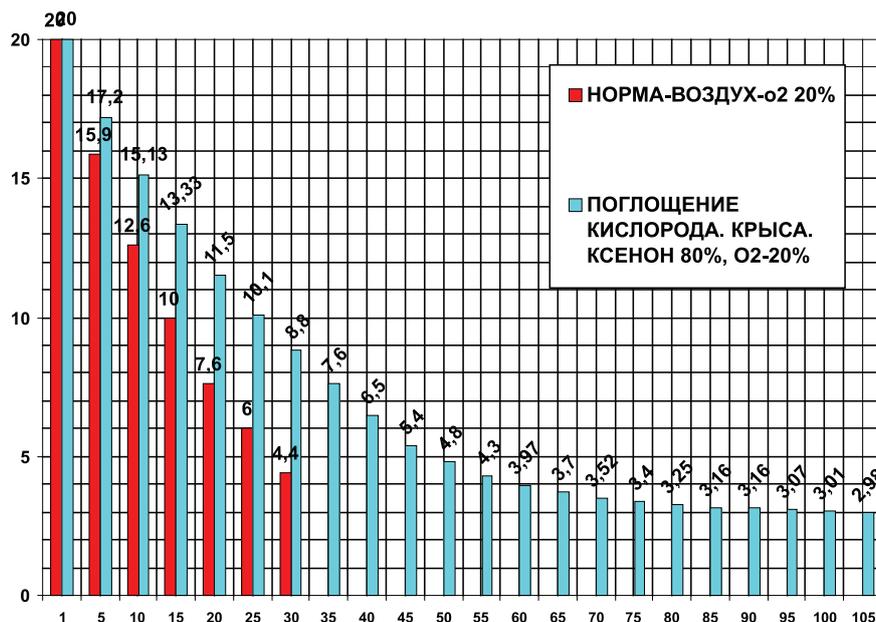


Рис. 3. Поглощение кислорода крысой в замкнутой камере в воздухе – первые столбики (азот 80%, кислород 20% – контроль) и в среде ксенона (ксенон – 80%, кислород – 20%). По оси абсцисс: – время опыта в минутах. По оси ординат: – концентрация кислорода в процентах (%) в камере с крысой

Для анализа действия медазепам проведены опыты на крысах массой 400 ± 50 г. В контрольной группе ($n = 25$) и на фоне медазепам проведено 14 опытов. Камера 1850 мл.

Поглощение кислорода в контроле за 30 минут было $18,85 \pm 0,5$ мл/кг/мин. Поглощение кислорода после меда-

зепам (рис. 4) за 135 минут было $4,57 \pm 0,8$ мл/кг/мин. После медазепам потребление кислорода составило 24% от контроля, это в 4,12 раза (при $P < 0,05$) меньше контроля. Время максимального выживания после медазепам составило 450% от контроля, что в 4,5 раза больше по сравнению с контролем (при $P < 0,05$).

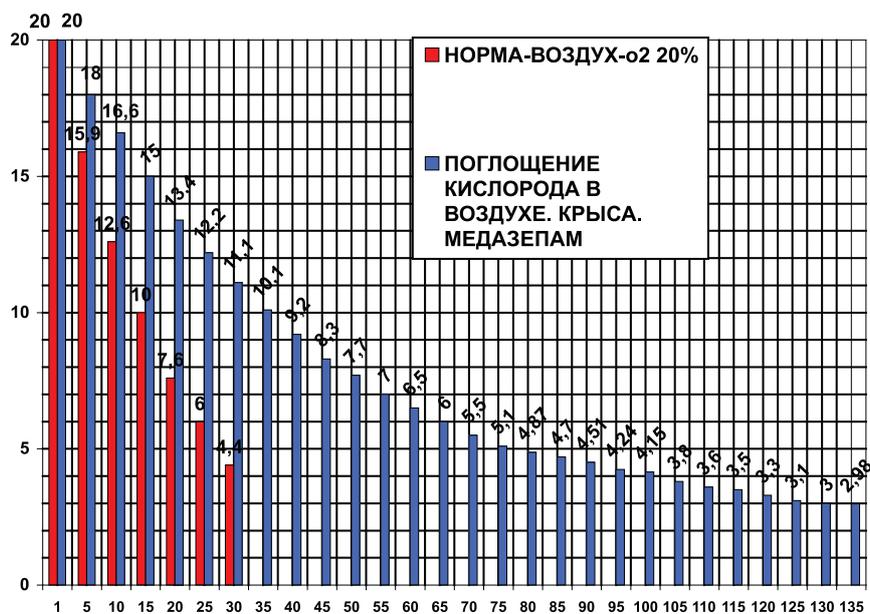


Рис. 4. Поглощение кислорода крысой в замкнутой камере в воздухе – первые столбики (азот 80%, кислород 20% – контроль) и после медазепам 2 мг/кг внутривенно. По оси абсцисс: – время опыта в минутах. По оси ординат: – концентрация кислорода в процентах (%) в камере с крысой

Действие нембутала (рис. 5) изучалось на крысах массой 400 ± 50 г. В контрольной группе ($n = 25$) и на фоне нембутала проведено 16 опытов. Камера 1850 мл. Поглощение кислорода в контроле за 30 мин было $18,85 \pm 0,5$ мл/кг/мин. Поглощение кислорода после нембутала за 60 минут

было $10,2 \pm 1,2$ мл/кг/мин. После нембутала потребление кислорода составило 54% от контроля, это в 1,84 раза (при $P < 0,05$) меньше контроля. Время максимального выживания после нембутала составило 200% от контроля, что в 2 раза больше по сравнению с контролем (при $P < 0,05$).

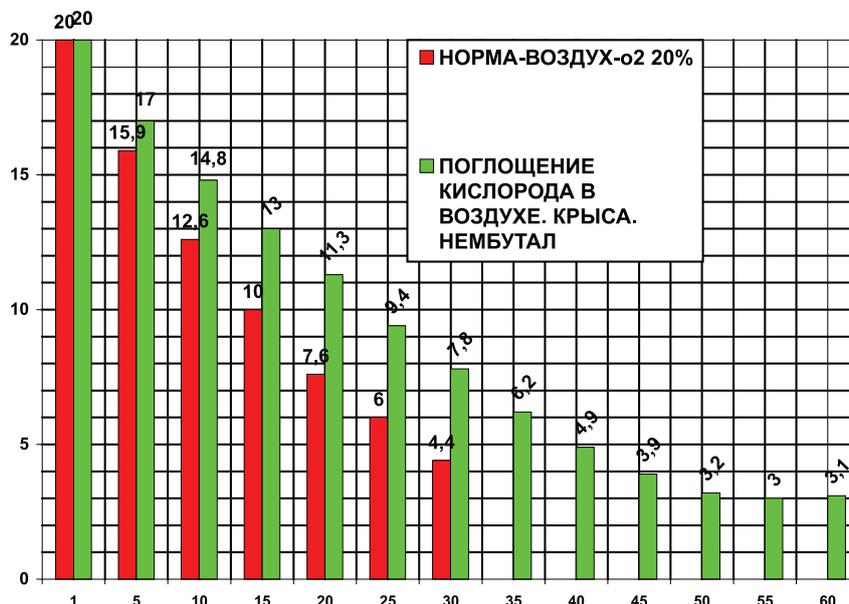


Рис. 5. Поглощение кислорода крысой в замкнутой камере в воздухе (азот 80%, кислород 20% – контроль) и после нембутала (пентобарбитал, этаминал натрия) 30 мг/кг внутрибрюшинно.

По оси абсцисс: – время опыта в минутах.

По оси ординат: – концентрация кислорода в процентах (%) в камере с крысой

Изменение величин потребления кислорода в нейтральных газах и при введении транквилизатора и барбитурата

Газовые смеси	Кислород, мл/кг/мин, поглощение организмом в замкнутой камере	Уменьшение потребления кислорода по сравнению с контролем	Максимальное время выживания в камере, мин
Контроль – O ₂ – 20%, Азот – 80%	$18,85 \pm 0,5$ мл/кг/мин		30
Аргон – 80%, O ₂ – 20%	$14,95 \pm 0,7$ мл/кг/мин	< 1,26 раз	40
Криптон – 80%, O ₂ – 20%	$10,87 \pm 1,3$ мл/кг/мин	< 1,75 раз	55
Ксенон – 80% O ₂ – 20%	$5,87 \pm 1,1$ мл/кг/мин	< 3,2 раз	105
Медазепам	$4,57 \pm 0,8$ мл/кг/мин	< 4,15 раз	135
Нембутал	$10,2 \pm 1,2$ мл/кг/мин	< 1,84 раз	60

Заклучение

Анализ результатов действия ксенона и медазепам на потребление кислорода крысами показал, что транквилизатор медазепам в большей степени, чем ксенон, уменьшает потребление кислорода организмом. Это говорит о том, что ксенон слабее действует на возбуждение тормозных ГАМК-эргических рецепторов, чем специфический ГАМК-миметик медазепам. Но так как на фоне медазепам аргон, криптон, ксенон не

усиливали своего действия, можно говорить о стимулирующем ГАМК-эргическом действии этих нейтральных газов, но по силе которое меньше, чем у медазепам.

Анализ действия аргона, криптона, ксенона на фоне нембутала показал, что эти нейтральные газы не усиливали эффект уменьшения потребления кислорода, как обычно без нембутала. В данных опытах ксенон в большей степени уменьшал потребление кислорода, чем нембутал.

Ксенон действует на потребление кислорода как нембутал, поэтому можно предположить, что ксенон – это газообразный транквилизатор. Криптон и аргон действуют слабее, но механизм действия, наверное, у них такой же как у ксенона. Поэтому можно предположить, что аргон и криптон более слабые и легкие транквилизаторы, чем ксенон.

Поэтому газы аргон, криптон, ксенон могут использоваться в практической медицине по тем же показаниям, что и транквилизаторы, но действие их слабее, но зато они выводятся из организма за несколько минут, а транквилизаторы могут выводиться из организма неделями.

Из данных литературы известно, что ксенон частично блокирует NMDA-глутаматные рецепторы [9, 10], которых в мозге в несколько раз больше, чем всех остальных рецепторов. Эти рецепторы возбуждаются при стрессе и обеспечивают выживаемость в экстремальных ситуациях. Подобным действием обладают барбитураты. Ксенон значительно увеличивает выживаемость при низкой концентрации кислорода, что теоретически подводит базу для его применения при лечении инфарктов, инсультов, травм и других нарушений кровообращения, когда создается гипоксия и нужно уменьшить потребление кислорода [7].

Аргон же, возможно, эффективней применять при незначительных нарушениях кровотока и небольшой гипоксии, например, у спортсменов после и во время кратковременных стрессов. Но для применения нужно разработать количественные характеристики метода применения аргона.

Выводы

Наши исследования показали, что аргон, криптон, ксенон уменьшают потребление кислорода организмом животного, и этот эффект усиливается при снижении концентрации кислорода. Анализ результатов действия блокатора NMDA-рецептора и миметика ГАМК-рецептора доказали, что физиологическим механизмом этого действия нейтральных газов является то, что нейтральные газы блокируют NMDA-рецепторы и усиливают ГАМК-эргическое торможение. Поэтому областью применения нейтральных газов могут быть те же показания, что и для транквилизаторов, но действие нейтральных газов намного слабее. Тормозные эффекты нейтральных газов выражены наиболее сильно у ксенона, намного слабее у криптона, а аргон [3, 6, 8] обладает наиболее слабым тормозным действием на организм из всех изученных нами газов в этой работе.

Работа выполнена при базовом бюджетном финансировании РАН, госрегистрация N01201052605.

Список литературы

1. Ананьев В.Н. Влияние инертных газов аргона и криптона на поглощение кислорода в замкнутом пространстве у крыс // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 1. – С. 11–13.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – 2000. – Т 1. – 543 с.
3. Павлов Н.Б. Аргон – биологически активный компонент газовой среды // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. – 2006. – № 6. – С. 15–18.
4. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л., Петров В.И. Рецепторы физиологически активных веществ. – Волгоград: Изд-во «Семь ветров», 1999. – 640 с.
5. Сергеев П.В., Галенко-Ярошевский П.А., Шимановский Н.Л. Очерки биохимической фармакологии. – М.: РЦ «Фарммединфо», 1996. – 384 с.
6. Солдатов П.Э., Дьяченко А.И., Павлов Б.Н. Выживаемость лабораторных животных в аргон-содержащих гипоксических средах // *Авиационная и экологическая медицина*. – 1998. – т. 32, № 4. – С. 33–37.
7. Харкевич Д.А. Фармакология. – М.: Гэотар Медицина, 2006. – 664 с.
8. David H.N., Haelewyn B., Degoulet M., Colomb D.G. Jr, Risso J-J., et al. Ex Vivo and In Vivo Neuroprotection Induced by Argon When Given after an Excitotoxic or Ischemic Insult // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7(2). – С. 1–6.
9. Ma D., Wilhelm I S., Maze M. Neuroprotective and neurotoxic properties of the 'inert' gas, xenon // *Br J Anaesth*. – 2002. – Nov; 89(5). – P. 739–46.
10. Yuzhen Liu, En- Sheng Ji, Shuanglin Xiang, Renaud Tamisier, Jingli Tong, Jianhua Huang, and J. Woodrow Weiss Exposure to cyclic intermittent hypoxia increases expression of functional NMDA receptors in the rat carotid body // *J Appl Physiol*. – 2009. – № 106: – P. 259–267.

References

1. Ananev V.N. The influence of inert gases argon and krypton on the oxygen in the confined space of rats – *Fundamental issledovaniya*, 2012, no. 1, pp. 11–13.
2. Mashkovskii M.D. *Drugs*, 2000, V 1. 543 p.
3. Pavlov N.B. Argon – a biologically active component of the gas medium- *Aerospace and Environmental meditsina*, 2006, no 6. pp. 15–18.
4. Sergeev P.V., Szymanowski N.L., Petrov V.I. Receptors are physiologically active substances, 1999, 640 p.
5. Sergeev P.V., Galenko-Yaroshevskii P.A., Szymanowski N.L. *Essays Biochemical Pharmacology*, 1996, 384 p.
6. Soldatov P.E., Dyachenko A.I., Pavlov B.N. Survival of laboratory animals in an argon-containing hypoxic environments – *Aircraft and Environmental Medicine*, 1998, v. 32, no. 4, pp. 33–37.
7. Kharkevich D.A. *Pharmacology*, 2006, 664 p.
8. David H.N., Haelewyn B., Degoulet M., Colomb D.G. Jr, Risso J-J., et al. Ex Vivo and In Vivo Neuroprotection Induced by Argon When Given after an Excitotoxic or Ischemic Insult// *PLoS ONE*. 2012. Vol. 7(2). pp. 1–6.
9. Ma D., Wilhelm I S., Maze M. Neuroprotective and neurotoxic properties of the 'inert' gas, xenon // *Br J Anaesth*. 2002 Nov; 89(5): 739–46.
10. Yuzhen Liu, En- Sheng Ji, Shuanglin Xiang, Renaud Tamisier, Jingli Tong, Jianhua Huang, and J. Woodrow Weiss Exposure to cyclic intermittent hypoxia increases expression of functional NMDA receptors in the rat carotid body // *J Appl Physiol*. 2009. no. 106. pp. 259–267.

Рецензенты:

Торшин В.И., д.б.н., профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии, ГОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», г. Москва;

Северин А.Е., д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии, ГОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», г. Москва.

Работа поступила в редакцию 27.11.2013.