

УДК 616-092.9

## ОПТИМАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ГИПЕРКАПНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

Куликов В.П.<sup>1, 2</sup>, Осипов И.С.<sup>1</sup>, Трегуб П.П.<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Алтайский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Барнаул

<sup>2</sup>НИИ физиологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск

E-mail: pfiza\_asmu@mail.ru

*Изучали оптимальную продолжительность сеансов гиперкапнически-гипоксических тренировок для повышения резистентности организма к острой гипоксии и их эффективность в зависимости от наличия периода реоксигенации и кратности применения в течение суток. Показано, что ежедневное 5-минутное гиперкапнически-гипоксическое воздействие в течение 3 сут значимо, а 30-минутное максимально увеличивает резистентность организма к острой гипоксии. Двукратные в течение суток сеансы тренировок не имеют преимуществ по сравнению с однократными. Гиперкапнически-гипоксические воздействия с периодами реоксигенации имеют наименьшую эффективность по сравнению с другими режимами воздействий.*

Ключевые слова: оптимальный режим, гиперкапния, гипоксия, резистентность, реоксигенация.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2015. Т. 49. № 5. С. 25–28.

Гипоксия является эффективным средством увеличения резистентности органов и тканей к острому дефициту кислорода [1–3]. Подробно описана сравнительная эффективность гипоксических тренировок при различной продолжительности курса воздействий [4]. Многие исследования гипоксических тренировок посвящены интервальному воздействию с периодами реоксигенации [5–7]. Недостатком описанных воздействий является необходимость длительной экспозиции и большого количества сеансов в рамках одного курса, как правило, 1–15-часовое гипоксическое воздействие с кратностью сеансов не менее 7 раз [4, 5, 8, 9]. Поэтому актуальным является поиск и оптимизация альтернативных вариантов применения гипоксии с целью повышения резистентности организма к стрессовым факторам.

Нами показано, что гипоксия в сочетании с гиперкапнией дает более выраженное увеличение резистентности органов и тканей к ишемии/гипоксии по сравнению с их изолированным применением [10, 11]. При этом повышение резистентности к острой гипоксии наблюдается уже после 3-кратного гиперкапнически-гипоксического воздействия, а увеличение

кратности воздействий сопровождается пропорциональным увеличением резистентности [11].

Однако несмотря на высокую эффективность сочетанного воздействия гиперкапнии и гипоксии, по сравнению с изолированной гипоксией остаются открытыми вопросы об оптимальной продолжительности тренировочной экспозиции, наличии зависимости эффекта от интервалов реоксигенации и кратности применения в течение суток. Поэтому целью данного исследования явилось сравнение эффективности различных вариантов коротких курсов гиперкапнически-гипоксических респираторных тренировок.

### Методика

Исследование проводилось на 150 белых половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой тела  $274,5 \pm 37$  г, в возрасте 9–10 мес. Все животные были рандомизированы по методу случайных чисел. Крысы находились в клетках при комнатной температуре ( $\sim 22$  °C) и естественном освещении. У животных был свободный доступ к еде и воде. До и после экспериментов всех животных взвешивали. Все используемые экспериментальные процедуры были одобрены локальным Этическим комитетом Алтайского государственного медицинского университета и производились с соблюдением принципов, описанных в Европейской конвенции о защите экспериментальных животных.

Для моделирования газовых состояний у крыс подопытных групп использовалась специальная проточная камера, аналогичная описанной ранее [11]. Для создания в организме животных гиперкапнической гипоксии применялась газовая смесь с концентрацией  $O_2$  13 % и  $CO_2$  7 %. Контрольная группа крыс помещалась в камеру при аналогичных условиях, но вместо газовой смеси компрессором нагнетался атмосферный воздух. Контроль газового состава камеры проводился газоанализатором «Микон» (ЗАО «Ласпек», Новосибирск, Россия).

Перед началом гиперкапнически-гипоксических воздействий у всех групп животных проводилась исходная оценка резистентности к острой гипоксии в

барокамере объемом 7 л. Воздух из барокамеры откачивался вакуумным насосом в течение 1 мин. Уровень атмосферного давления в ходе эксперимента контролировался альтиметром. Атмосферное давление в барокамере соответствовало высоте 11 500 м над уровнем моря, при котором парциальное содержание кислорода составляет примерно 5 %. Для восстановления исходного уровня атмосферного давления барокамера имела впускной клапан. После выключения вакуумного насоса восстановление давления происходило в течение 1 мин [11]. При проведении исследования регистрировалось время потери позы (ВПП), оцениваемое по принятию животным бокового положения, и время жизни (ВЖ), определяемое по появлению 2-го агонального вдоха [4]. После завершения экспериментов все крысы выжили и восстанавливали активное поведение без видимых признаков патологии. Эксперимент проводился при внешней температуре 20–22 °С и влажности 40–50 %.

Исследование состояло из 3 экспериментальных серий:

1. Определение оптимальной продолжительности 1 сеанса тренировки: 60 животных были разделены на 4 равные группы, прошедшие впоследствии 3-дневный курс гиперкапнически-гипоксических тренировок продолжительностью сеанса 5 (ГГ5), 10 (ГГ10), 30 (ГГ30) и 60 (ГГ60) мин. Исходный уровень резистентности к острой гипоксии определялся для всей выборки животных данной серии ( $n = 60$ ). После завершения серии определялась оптимальная продолжительность тренировочного сеанса, которая использовалась в последующих сериях эксперимента.

2. Определение зависимости эффекта от количества дней 30-минутных тренировок – 1-дневный (ГГ1D), 2-дневный (ГГ2D) и 3-дневный (ГГ3D) курс гиперкапнически-гипоксических тренировок. Для этого использовали 45 животных, распределенных поровну в группы ГГ1D, ГГ2D и контроля, а показатели резистентности группы ГГ3D брали из результатов 1-й серии.

3. Определение зависимости эффекта от наличия периода реоксигенации и кратности применения в течение суток: 45 животных были разделены на 3 равные группы: 1-я группа проходила 3-дневный курс тренировок 2-кратно – в 12.00 и 19.00 (ГГ × 2); 2-я группа – 3-дневный курс тренировок с интервальной гиперкапнической гипоксией (ИГГ) сеансами, состоящими из 6 циклов общей длительностью 60 мин. Каждый из циклов включал 5 мин дыхания гиперкапнически-гипоксической газовой смесью и 5 мин дыхания атмосферным воздухом; 3-я группа – контрольная.

На следующие сутки после окончания тренировок у всех животных проводилась оценка резистентности к острой гипоксии.

Статистический анализ проводился с помощью программного пакета Statistica 6,0. Гипотеза о

нормальности распределения проверялась по критерию Шапиро–Уилка. Часть данных не соответствовала закону нормального распределения, поэтому сравнение между группами производилось по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Достоверными считались различия, для которых уровень  $P$  был меньше 0,05. Все показатели представлены в виде средних величин (медиана –  $Me$ ), нижнего и верхнего квартиля (25 %; 75 %).

### *Результаты и обсуждение*

В контрольных группах уровень резистентности животных к экстремальной гипоксии в течение эксперимента не изменялся. Также при оценке исходной резистентности к гипоксии отсутствовали различия между группами во всех 3 экспериментальных сериях. При этом во всех подопытных группах тренировки приводили к увеличению показателей ВПП и ВЖ по сравнению с контролем и исходным уровнем. Способность дольше сохранять нормальную позу и двигательную активность в условиях критически низкой концентрации кислорода свидетельствует об увеличении устойчивости головного мозга и организма в целом к гипоксии, а увеличение времени жизни – об увеличении способности животного к максимальной мобилизации витальных функций организма в сублетальный период [4].

В 1-й серии экспериментов установили, что уже 5-минутное сочетанное воздействие гипоксии и гиперкапнии в 3-суточном курсе увеличивало резистентность к острой гипоксии на 65 % по сравнению с исходным уровнем (рис. 1). В группе ГГ10 резистентность к гипоксии возросла практически в 2 раза, однако максимальные значения определяемых параметров (увеличение почти в 3 раза относительно исхода) было зафиксировано в группе животных, подвергнутых 30-минутному воздействию. Животные в группе ГГ60 показали самые низкие значения ВПП среди подопытных групп, в то время как ВЖ было ниже только по сравнению с группой ГГ30. Снижение эффективности продолжительных тренировок (60 мин) по сравнению с более короткими может свидетельствовать о возникновении «срыва» адаптации в результате длительного энергодефицита [12].

В соответствии с полученными данными во 2-й и 3-й сериях исследования использовались тренировочные сеансы продолжительностью 30 мин как наиболее эффективные. Показано, что резистентность к гипоксии после гиперкапнически-гипоксического воздействия формируется уже после однократного 30-минутного сеанса (рис. 2). При этом 2-кратное воздействие в течение суток не имело преимуществ перед однократным воздействием. Полученные данные свидетельствуют о том, что стойкая резистентность к острой гипоксии при гиперкапнически-гипоксическом воздействии

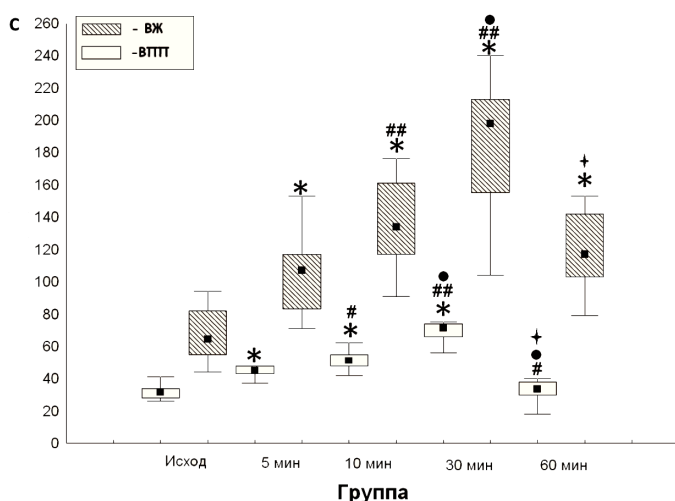


Рис. 1. Зависимость ВПП и ВЖ у крыс от продолжительности воздействия

\* –  $p < 0,01$  по сравнению с исходным уровнем; # –  $p < 0,05$  по сравнению с ГГ5; ## –  $p < 0,01$  по сравнению с ГГ5.; \* –  $p < 0,01$  по сравнению с ГГ10; + –  $p < 0,01$  по сравнению с ГГ30

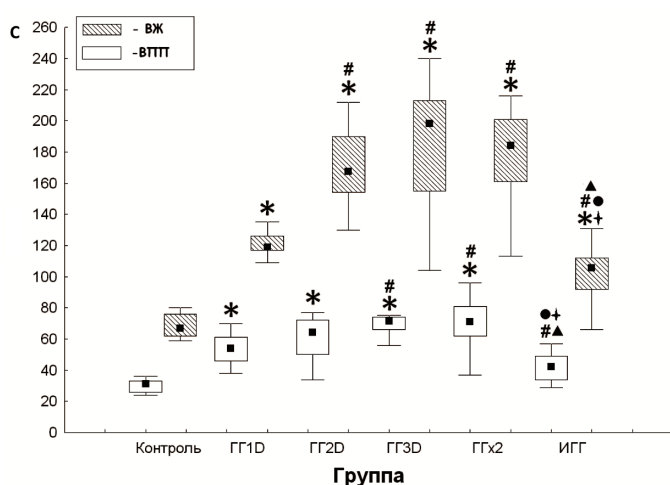


Рис. 2. ВПП и ВЖ крыс в зависимости от кратности воздействия и наличия периода реоксигенации.

\* –  $p < 0,01$  по сравнению с контролем; # –  $p < 0,01$  по сравнению с 1-дневным курсом; \* –  $p < 0,01$  по сравнению с 2-дневным курсом; + –  $p < 0,01$  по сравнению с 3-дневным курсом; ^ –  $p < 0,01$  по сравнению с 3-дневным курсом при 2-кратном воздействии

формируется в промежутке между 2-м и 3-м сеансами тренировок, а также об отсутствии зависимости эффекта от увеличения кратности сеансов в течение суток. Данный факт может быть связан с тем, что минимальное время, необходимое для формирования резистентности к острому дефициту кислорода, составляет около 24 ч [13].

Наименьшие значения показателей резистентности к острой гипоксии среди подопытных групп во время проведения 3-й серии исследования были зарегистрированы в группе ИГГ, подвергнутой интервальным гиперкапнически-гипоксическим воздействиям (см. рис. 2). Подобные результаты были получены Л.Д. Лукьяновой и соавт. при исследовании роли реоксигенации в ходе гипоксического воздействия [4]. В указанной работе было показано, что однократное воздействие интервальной гипоксией оказывает значительно меньший положительный эффект по сравнению с аналогичным воздействием безынтервальной гипоксией. Это можно объяснить тем, что периоды реоксигенации оказывают угнетающее действие на экспрессию HIF-1 (hypoxia-inducible factor 1), тем самым уменьшая эффективность гипоксического воздействия [14]. В условиях тяжелой гипоксии интервалы реоксигенации оказывают положительное действие, но в условиях умеренной гипоксии, которая применялась в нашем исследовании в качестве тренировочного воздействия, они, напротив, снижают адаптогенный эффект.

## Выводы

1. Ежедневное 5-минутное воздействие умеренной гиперкапнической гипоксией в течение 3 дней приводит спустя сутки после окончания тренировок к значимому увеличению резистентности организма к острой гипоксии, а 30-минутное воздействие – к максимальному росту резистентности.

2. Двукратные в течение суток 30-минутные сеансы тренировок с умеренной гиперкапнической гипоксией не имеют преимуществ по влиянию на резистентность к острой гипоксии перед однократными тренировками.

3. Интервальные тренировки с умеренной гиперкапнической гипоксией, включающие 5-минутные периоды реоксигенации, менее эффективны для повышения резистентности к острой гипоксии по сравнению с безынтервальными тренировками.

## Список литературы

1. Agadzhanyan N.A., Bragin L.Kh., Davydov G.A., Spasskii Yu.A. Dynamics of external respiration and gas exchange during combined exposure to hypoxia and hypercapnia // Hum. Physiol. 1984. V. 10. № 4. P. 282–288.
2. Meerson F.Z., Ustinova E.E., Orlova E.H. Prevention and elimination of heart arrhythmias by adaptation to intermittent high altitude hypoxia // Clin. Cardiol. 1987. V. 10. № 12. P. 783–789.
3. Zhan L., Wang T., Li W. et al. Activation of Akt/FoxO signaling pathway contributes to induction of neuroprotection against transient global cerebral ischemia by hypoxic

preconditioning in adult rats // *Neurochem.* 2010. V. 114. № 3. P. 897–908.

4. Лукьянова Л.Д., Германова Э.Л., Копаладзе Р.А. Закономерности формирования резистентности организма при разных режимах гипоксического preconditionирования: роль гипоксического периода и реоксигенации // *Бюл. эксперим. биол. и медицины.* 2009. Т. 147. № 4. С. 380–384.

Lukyanova L.D., Germanova E.L., Kopaladze R.A. Regularities of the development of resistance of the body at different modes of hypoxic preconditioning: the role of hypoxia and reoxygenation period // *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny.* 2009. V. 147. № 4. P. 380–384.

5. Neckar J., Papousek E., Novakova O. et al. Cardioprotective effects of chronic hypoxia and ischemic preconditioning are not additive // *Basic Res. Cardiol.* 2002. V. 97. № 2. P. 161–167.

6. Shatilo V.B., Korkushko O.V., Ischuk V.A. et al. Effects of intermittent hypoxia training on exercise performance, hemodynamics, and ventilation in healthy senior men // *High Alt. Med. Biol.* 2008. V. 9. № 1. P. 43–52.

7. Goryacheva A.V., Kruglov S.V., Pshennikova M.G. et al. Adaptation to intermittent hypoxia restricts nitric oxide overproduction and prevents beta-amyloid toxicity in rat brain // *Nitric Oxide.* 2010. V. 23. № 4. P. 289–299.

8. Chen W.J., Chen H.W., Yu S.L. et al. Gene expression profiles in hypoxic preconditioning using cDNA microarray analysis: altered expression of an angiogenic factor, carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 // *Shock.* 2005. V. 24 № 2. P. 124–131.

9. Yang C.C., Lin L.C., Wu M.S. et al. Repetitive hypoxic preconditioning attenuates renal ischemia/reperfusion induced oxidative injury via upregulating HIF-1 alpha-dependent bcl-2 signaling // *Transplantation.* 2009. V. 88 № 11. P. 1251–1260.

10. Трегуб П.П., Куликов В.П., Беспалов А.Г. и др. Нейропротективная эффективность тренировок с изолированным и сочетанным воздействием гипоксией и гиперкапнией в эксперименте // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2013. Т. 155. № 3. С. 302–304.

Tregub P.P., Kulikov V.P., Bespalov A.G. et al. Neuroprotective effects of individual or combined exposure to hypoxia and hypercapnia in the experiment // *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny.* 2013. V. 155. № 3. P. 302–304.

11. Tregub P.P., Kulikov V.P., Bespalov A.G. Tolerance to acute hypoxia maximally increases in case of joint effect of normobaric hypoxia and permissive hypercapnia in rats // *Pathophysiol.* 2013. V. 20. № 3. P. 165–170.

12. Althausen S., Mengesdorf T., Mies G. et al. Changes in the phosphorylation of initiation factor eIF-2alpha, elongation factor eEF-2 and p70 S6 kinase after transient focal cerebral ischemia in mice // *Neurochem.* 2001. № 78. P. 779–787.

13. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции // *Патол. физиол. и эксперим. терапия.* 2011. Т. 1. С. 3–19.

Lukyanova L.D. Modern problems of adaptation to hypoxia. Signaling mechanisms and their role in the system of regulation // *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya.* 2011. Т. 1. P. 3–19.

14. Stroka D., Burkhardt T., Desbaillets I. et al. HIF-1 is expressed in normoxic tissue and displays an organ-specific regulation under systemic hypoxia // *FASEB J.* 2001. № 15. P. 2445–2453.

15. Zhou Q., Cao B., Niu L. et al. Effects of permissive hypercapnia on transient global cerebral ischemia-reperfusion injury in rats // *Anesthesiol.* 2010. V. 112. № 2. P. 288–297.

16. Sun Y., Ouyang Y.B., Xu L. et al. The carboxyl-terminal domain of inducible Hsp70 protects from ischemic injury in vivo and in vitro // *Cereb. Blood Flow Metab.* 2006. V. 26. № 7. P. 937–950.

17. Stenzel-Poore M.P., Stevens S.L., King J.S., Simon R.P. Preconditioning reprograms the response to ischemic injury and primes the emergence of unique endogenous neuroprotective phenotypes: a speculative synthesis // *Stroke.* 2007. V. 38. № 2. P. 680–685.

18. Lindauer U., Vogt J., Schuh-Hofer S. et al. Cerebrovascular vasodilation to extraluminal acidosis occurs via combined activation of ATP-sensitive and Ca<sup>2+</sup>-activated potassium channels // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2003. V. 23. № 10. P. 1227–1238.

19. Zakyntinos S., Katsaounou P., Karatza M. et al. Antioxidants increase the ventilatory response to hyperoxic hypercapnia // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 2007. V. 175. № 1. P. 62–68.

Поступила 25.03.2015

## OPTIMAL HYPERCAPNIC HYPOXIA CONDITIONS FOR INCREASING RESISTANCE TO ACUTE HYPOXIA

Kulikov V.P., Osipov I.S., Tregub P.P.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2015. V. 49. № 5. P. 25–28

*The study was focused on finding an optimal length of hypercapnia-hypoxia sessions of training resistance to acute hypoxia and looking for benefits from reoxygenation intervals and intermittent training over daytime. It turned out that 3 days of a 5-minute hypercapnia-hypoxia session per day improved resistance to acute hypoxia explicitly and that a 30-minute session increased resistance to the highest rate. Two training sessions per day are no better than one session. Hypercapnia-hypoxia training with reoxygenation intervals are the least effective in comparison to the other modes of training.*

Key words: optimal regime, hypercapnia, hypoxia, resistance, reoxygenation.