

ВПЛИВ ГЛІАЛЬНОГО НЕЙРОТРОФІЧНОГО ФАКТОРА НА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ТВАРИН В УМОВАХ ГОСТРОЇ ГІПОБАРИЧНОЇ ГІПОКСІЇ IN VIVO

Литвин Т. О.², Кулик В. Б.², Качалова О.А.¹

¹Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

²Київський національний університет технологій та дизайну, кафедра промислової фармації, м Київ, Україна,

e-mail: tatiana_lytvyn@i.ua; kulyk@biph.kiev.ua

Виявлено, що гостра гіпобарична гіпоксія істотно впливає на життєво важливі показники досліджуваних тварин. В контрольній групі зареєстрована низька стійкість мишей лінії C57BL / 6 до дії гіпоксії, що проявляється в зменшенні тривалості життя (Тж) і високій смертності тварин в умовах гострої гіпобаричної гіпоксії (ГГБГ). Інтраназальне застосування нейротрофічного фактора GDNF в концентраціях 4 і 40 мкг/ кг перед впливом ГГБГ, мало захисну дію і сприяло підвищенню стійкості тварин до дії кисневої недостатності. В групах із застосуванням GDNF встановлено високу тривалість життя на «смертельному майданчику», зареєстровані найбільша виживаність тварин, їх здатність протягом більшого часу підтримувати позу в умовах ГГБГ. Також, вперше порівняно потенційну ефективність застосування GDNF як антигіпоксанту та відомого антигіпоксанту реамберину в умовах гострої гіпобаричної гіпоксії.

Ключові слова: гіпобарична гіпоксія, гліальний нейротрофічний фактор, виживаність тварин, реамберин.

INFLUENCE OF GLIAL NEUROTROPHIC FACTOR ON ANIMAL SURVIVAL IN ACUTE HYPOBARIC HYPOXIA IN VIVO

Lytvyn T. O.², Kulyk V. B.², Kachalova O.A.¹

¹Bogomolets national medical university

²Kyiv National University of Technologies and Design, Department of Industrial Pharmacy, Kyiv, Ukraine, e-mail: tatiana_lytvyn@i.ua; kulyk@biph.kiev.ua

It was found that acute hypobaric hypoxia significantly affects the vital indicators of the studied animals. In the control group, low resistance of mice of the C57BL / 6 line to the action of hypoxia was registered, which is manifested in a decrease in life expectancy and high mortality of animals in conditions of acute hypobaric hypoxia (GGBG). Intranasal administration of neurotrophic factor GDNF at concentrations of 4 and 40 $\mu\text{g} / \text{kg}$ before exposure to GGBG, had a protective effect and increased the resistance of animals to the action of oxygen deficiency. In groups with the use of GDNF, a high life expectancy at the "death site" was established, the highest survival of animals, their ability to maintain a posture for more time in the conditions of GGBG was registered. Also, for the first time, the potential efficacy of GDNF as an antihypoxant and the known antihypoxant reamberin in acute hypobaric hypoxia was compared.

Key words: hypobaric hypoxia, glial neurotrophic factor, animal survival, reamberin.

Мета дослідження: вивчити антигіпоксичні властивості GDNF, оцінити ступінь виживаності тварин при впливі GDNF в умовах гострої гіпобаричної гіпоксії, порівняти антигіпоксичні властивості GDNF та відомого антигіпоксанта – реамберину.

Матеріали та методи дослідження: інтраназальне введення речовини, моделювання гострої гіпобаричної гіпоксії, поведінкові тести, оцінка часу життя на висоті, оцінка виживання, статистичні методи.

Результати дослідження

Моделювання гіпоксії тваринам проводилося протягом 10 хвилин, при цьому час життя тварини в умовах гіпоксії оцінювався як час від моменту підйому на змодельовану «висоту» до появи другого агонального вдиху і настання летального результату, або протягом 10 хвилин [1-3].

Результати показали наступне: незважаючи на те, що для контрольної групи Тж в порівнянні з іншими групами було мінімальне, достовірних відмінностей в значеннях даного параметра виявлено не було. Величина Тж: $8,1 \pm 0,72$ хвилин для контрольної групи, $8,8 \pm 0,55$ для групи з використанням реамберину, $9,2 \pm 0,32$ - GDNF (4 мкл / кг), $8,36 \pm 0,65$ - GDNF (40 мкл / кг).

Також, при оцінці Тж тварини за ступенем стійкості до впливу гострої гіпобаричної гіпоксії були розподілені на 3 групи: низькостійкі до гіпоксії (НС) з Тж менше 3 хв, Середньостійка (СС) з Тж від 3 до 9 хвилин і високостійкі (ВС), які виживають на «висоті» більше 9 хвилин без видимих проявів гіпоксичного ушкодження.

Було показано, що низькостійкі тварини зустрічалися тільки в контрольній групі, їх кількість становила 21,5% від загальної кількості мишей в групі (Рис. 1).

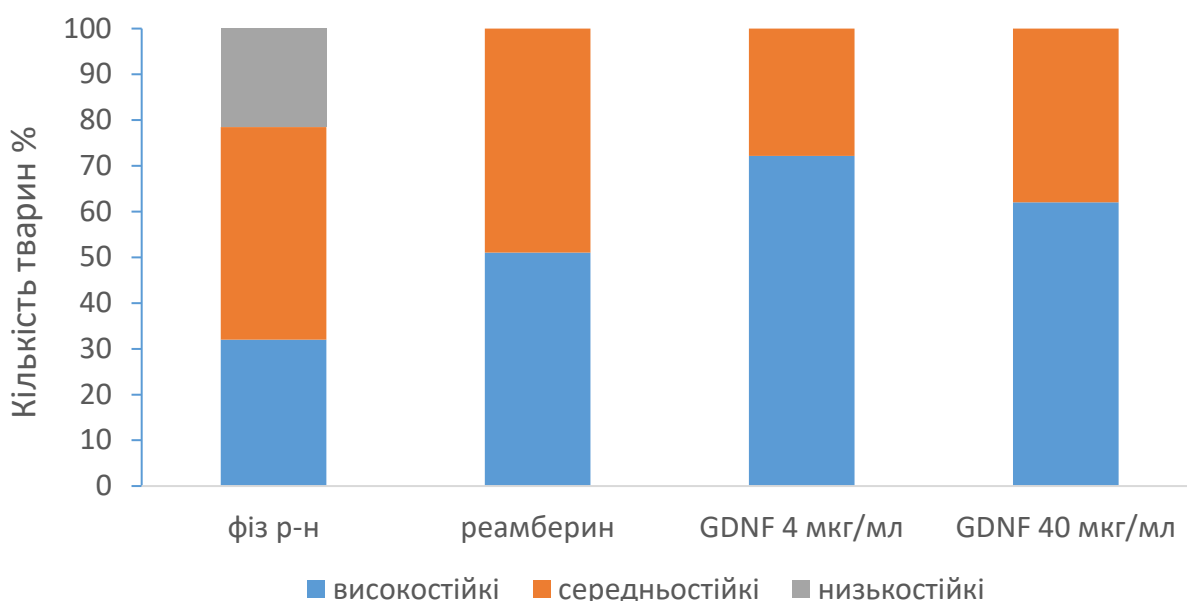


Рисунок 1. Оцінка стійкості мишей до гострої гіпобаричної гіпоксії.

У групі з превентивним введенням GDNF (в дозуванні 4 мкг / кг), спостерігали найбільший відсоток високостійких мишей - 72,2%, що вище, ніж в групі з антигіпоксантом Реамберин, де частка високостійких мишей склала 50%. В обох групах з інтраназальним введенням GDNF (40 мкг / кг і 4 мкг / кг) кількість високостійких мишей перевищувала 50%, що характеризує GDNF як ефективний антигіпоксанти в умовах дії гострої гіпобаричної гіпоксії.

При аналізі антигіпоксичної дії GDNF важливим етапом є оцінка такого параметра як виживаність тварин при моделюванні гіпоксії, яке

визначається як частка тварин, які витримали перебування на «смертельному майданчику» протягом 10 хвилин від загального числа тварин в групі [1, 2].

Результати показали, що найбільша виживаність спостерігається в групі з низькою концентрацією GDNF (4 мкг / кг) - 61,9%. Мінімальний відсоток виживання був виявлений в групі мишей з інтраназальним введенням фізіологічного розчину (30%). Групи з попереднім введенням еталонного препарату і GDNF високої концентрації (40 мкг / кг) показали однаковий результат, виживання в цих групах склала 35% (рис. 2).

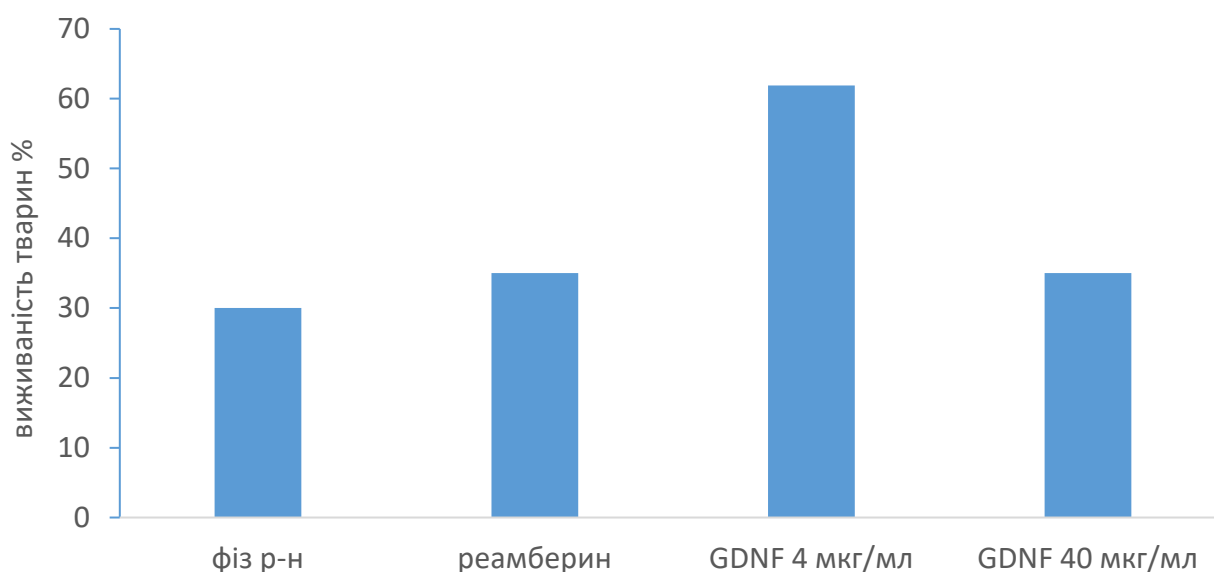


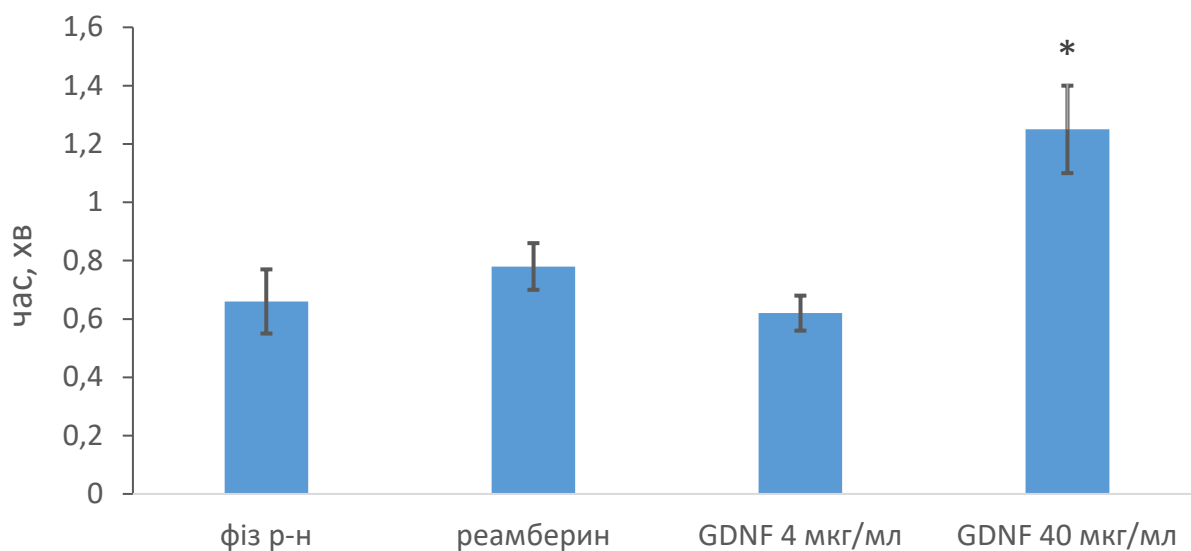
Рисунок 2. Вживаність мишей при моделюванні гострої гіпобаричної гіпоксії.

Це може свідчити, що превентивне інтраназальне введення GDNF у низькій концентрації сприяє підвищенню виживаності тварин в умовах гіпобаричної гіпоксії. Вживання мишей групи із застосуванням GDNF у низькій концентрації в 2 рази вище, ніж у контрольній групі з попереднім інтраназальним введенням фізіологічного розчину.

При моделюванні ГГБГ проводилася оцінка часу втрати пози (Твп, хв) і часу відновлення пози. Дані параметри відображають стан рефлексорних реакцій тварин [1-4].

Час втрати пози розраховували як період від початку «підйому» тварин в барокамері до моменту, коли тварина приймає бічне становище і втрачає здатність самостійно підтримувати позу [5].

Аналіз даних Твп, виявив, що тварини з інтраназальним введенням GDNF (4 мкг / кг), на ряду з контрольними тваринами і тваринами із застосуванням реамберину, зберігали здатність підтримувати позу найменший період часу. Значення даного параметра в групі з інтраназальним застосуванням GDNF (40 мкг / кг) виявилося достовірно вище щодо інших груп і склало $1,25 \pm 0,15$ хв (рис. 3).



* – статистично значима різниця з контрольною групою, $p < 0,05$ (ANOVA)

Рисунок 3. Час втрати пози при моделюванні гострої гіпобаричної гіпоксії.

При оцінці часу відновлення пози, яка розраховується як період від негайного «спуску» до моменту, коли тварина знову набуває здатності стояти на кінцівках [6, 7], не виявлено достовірних відмінностей між групами (рис. 4).

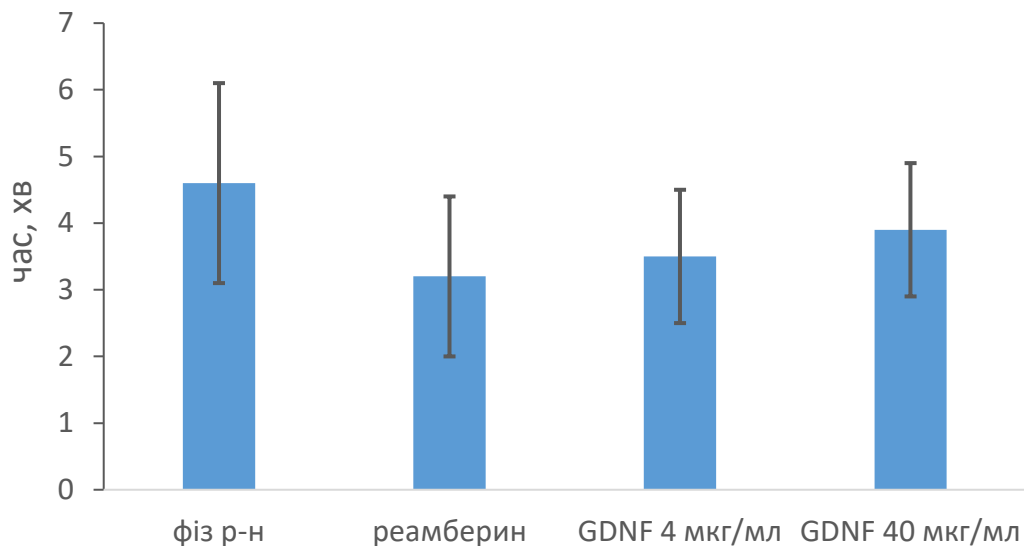


Рисунок 4. Час відновлення пози тварин при моделюванні гострої гіпобаричної гіпоксії

Таким чином, в результаті проведеного дослідження було виявлено, що гостра гіпобарична гіпоксія істотно впливає на життєво важливі показники тварин. Так, в контрольній групі зареєстрована низька стійкість до дії гіпоксії, що проявляється в зменшенні Тж і високій смертності тварин в умовах ГГБГ. Інтраназальне застосування нейротрофічного фактора GDNF в концентраціях 4 і 40 мкг / кг перед впливом ГГБГ, мало захисну дію і сприяло підвищенню стійкості тварин до дії кисневої недостатності. Так, в групах із застосуванням GDNF встановлено високий час життя на «смертельному майданчику», зареєстровані найбільша виживаність тварин, їх здатність протягом більшого часу підтримувати позу в умовах ГГБГ.

Висновки. Отримані результати вказують на потенційну ефективність застосування GDNF як антигіпоксанта нарівні із застосуванням відомого антигіпоксанта реамберину.

Список літератури

1. Ведунова, М. В. Шишкіна, Т. А., Мищенко, Е. В. Митрошина, Т. А. Нейропротекторное и антигипоксическое действие глиального нейротрофического фактора (GDNF) при моделировании гипоксии //

Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2016. – № 1. – С. 33 – 39.

2. Сахарнова Т.А., Митрошина Е. В., Шишкина Т. В. Антигипоксические и нейропротективные свойства нейротрофических факторов BDNF и GDNF при гипоксии *in vitro* и *in vivo* // Журнал Современные технологии в медицине. – 2014. – №4. – С. 38 – 47.
3. Duarte, E. P. Neuroprotection by GDNF in the ischemic brain // Growth Factors.– 2012. –Vol. 30(4). – P. 242 – 257.
4. Treanor, J. J. Characterization of a multicomponent receptor for GDNF / J. J. Treanor, L. Goodman, F. de Sauvage, D. M. Stone, K. T. Poulsen, C. D. Beck, C. Gray, M. P. Armanini, R. A. Pollock, F. Hefti, H. S. Phillips, A. Goddard, M. W. Moore, A. Buj-Bello, A. M. Davies, N. Asai, M. Takahashi, Vandlen, C. E. Henderson, A. Rosenthal // Nature. – 1996. – Vol. 382. – P. 80 – 83.
5. Lin, L. F. GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons / L. F. Lin, D. H. Doherty, J. D. Lile, S. Bektesh, F. Collins // Science. – 1993. – Vol. 260(5111). – P. 1130 – 1132.
6. Ledda, F. GDNF and GFR α 1 promote formation of neuronal synapses by ligand-induced cell adhesion / F. Ledda, G. Paratcha, T. Sandoval-Guzmán, C. F. Ibáñez // Nat Neurosci. – 2007. – Vol. 10(3). – P. 293 – 300.
7. Jing, S. GDNF-induced activation of the ret protein tyrosine kinase is mediated by GDNFR- α , a novel receptor for GDNF / S. Jing, D. Wen, Y. Yu, P. L. Holst, Y. Luo, M. Fang, R. Tamir, L. Antonio, Z. Hu, R. Cupples, J. C. Louis, S. Hu, B. W. Altmann, G. M. Fox // Cell. – 1996. – Vol. 85(7). – P. 1113 – 1124.