

“УТВЕРЖДАЮ”

**Проректор по научной работе и
инновациям Ферганского
медицинского института
общественного здоровья DSc**

Кадирова М.Р.

“ 1 ” декабря 2022 г.

ПРОТОКОЛ

№ 7

**о внедрении результатов научно – исследовательской работы в
деятельность научно-исследовательской лаборатории Ферганского
медицинского института общественного здоровья**

Рашидова Д.А., Юлдашев Н.М.

**«РАЗРАБОТКА НОВЫХ СПОСОБОВ ПРОТЕКЦИИ ОРГАНИЗМА
ОТ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ И ГИПЕРАДРЕНАЛИНЕМИИ»**

(методическая рекомендация)

ТАШКЕНТ - 2022

Введение. Методическая рекомендация посвящена к разработке новых способов фармакологической протекции организма при острой гипоксии и гипердреналинемии. В ходе экспериментальных исследований была установлена эффективность аминокислоты глицин при острой гипоксии, а также при введении высоких доз адреналина. В методической рекомендации приведены данные об эффективности глицина при острой гипоксической и нормобарической гипоксии и при введении высоких (токсических) доз адреналина. Аминокислота глицин при таких экстремальных ситуациях проявила антигипоксическое, а также кардиопротективное (учитывая некрозогенное действие высоких доз адреналина в миокарде) действие. Разработана теоретическая основа для рекомендации больным, которые находятся в группе риска инфаркта миокарда, комплексный подход с включением аминокислоты глицина в целях снижения риска осложнений гипоксии и некроза миокарда.

Цель исследования:

Оценка возможностей протекции организма от острой гипоксии и гипердреналинемии путем применения аминокислоты глицин.

Задачи исследования:

1. Оценить эффективность глицина при острой нормобарической гипоксии на белых мышах.
2. Изучать антигипоксическое воздействие глицина при гипоксической гипоксии на мышах.
3. Оценить влияние глицина на повышении резистентности организма гипердреналинемии в эксперименте.

Дизайн исследования:

Исследование основано на изучении антигипоксического свойства аминокислоты глицина на мышах путём моделирования нормобарической и гипоксической гипоксии в экспериментальных условиях. Также была изучена эффективность глицина при гипердреналинемии на мышах.

Проведено 4 серии опытов:

1-я серия – с моделированием острой гипоксической гипоксии. Для изучения эффективности глицина на модели гипоксической гипоксии с асфиксией в качестве подопытных животных были также выбраны мыши. С этой целью нами были использованы 20 мыши-самцы, весом 23-24 г. Над

подопытными животными ввели наблюдение в течении 7-и дней до проведения эксперимента и держали их на стандартном рационе. Методом случайной выборки подопытных животных разделили на две группы: 12 мыши составили опытную, а 8 – контрольную группу. Также, как и в первой модели гипоксии, учитывая зависимость между потреблением кислорода и массой тела организма, постарались выбрать животных почти одинаковым весом для обеих групп. Вес мышей контрольной группы равнялся $23,00 \pm 0,35$ г, а опытной – $23,95 \pm 0,33$ г. Животным опытной группы внутрибрюшинно вводили глицин в дозе 100 мг/кг массы тела, однократно. Мышам контрольной группы внутрибрюшинно ввели физиологический раствор в аналогичном объеме. Для изучения возможного антигипоксического действия глицина, нами была выбрана другая простая экспериментальная модель – тест «асфиксии утопления». Для проведения теста нам понадобились ёмкости, наполненные водой, закрывающиеся герметично. Через 30 минут введения препарата поочередно животных обеих групп погружая в воду, подвергали к гипоксии. Об антигипоксическом действии препарата судили по его способности увеличивать латентность гибели животных в тесте «асфиксии утопления».

2-я серия – с моделированием острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией. Для воспроизведения гиперкапнической модели гипоксии в качестве подопытных мелких животных нами были выбраны мыши. С этой целью были проведены опыты на 30-ти белых мышах-самцах – из которых 10 составили контрольную и 20 опытную группу. Животных разделяли методом случайной выборки. Учитывая зависимость содержания кислорода от массовых (весовых) показателей живых систем нами для контрольной и опытной групп были выбраны мыши с одинаковой массой тела. Так, вес мышей контрольной группы равнялся $23,19 \pm 0,49$ г, а опытной – $23,36 \pm 0,38$ г. Животным опытной группы внутрибрюшинно вводили глицин в дозе 100 мг/кг массы тела, в течении 10 дней и на 11-е сутки животных обеих групп подвергли к гипоксии. Для моделирования нормобарическую гипоксию с гиперкапнией нам не понадобилось сложной аппаратуры. Экспериментальных животных (мышей) по одиночке разместили под стеклянными банками одинакового объема (100 мл), которые герметично закрываются. По мере потребления животными кислорода, его содержание во вдыхаемом воздухе снижается, а углекислого газа – повышается, что и приводит животных к гибели. Эксперименты над контрольной и опытной группой проводили параллельно. Регистрировали продолжительность жизни животных, и по ней судили об антигипоксическом эффекте глицина.

3-я серия– острое адреналиновое поражение (подкожно, в дозе 3 мг/кг, однократно) с однократным введением глицина. Опыты адреналинового поражения миокарда проводили с введением двух разных дозировок (3,5 и 10 мг/кг). По первой дозировки адреналинового поражения эксперименты были проведены на 30-и белых мышах-самцах, из которых 18 составили опытную и 12 – контрольную группу. В течении 7-и дней подопытные животные были под наблюдением и соблюдали стандартную диету. Средняя масса животных для контрольной группы составила $21,16 \pm 0,43$ г и для опытной группы – $21,52 \pm 0,58$ г. Животным опытной группы однократно ввели глицин в дозе 100 мг/кг, внутривентриально, а животным контрольной группы ввели соответствующий объём физиологического раствора. Через 30 минут после введения препарата всем подопытным мышам подкожно ввели адреналин в дозе 3,5 мг/кг.

4-я серия– острое адреналиновое поражение (подкожно, в дозе 10 мг/кг, однократно) с десятидневным введением глицина. Глицин (ООО Биотика, РФ) вводили внутривентриально в дозе 100 мг/кг веса. Во второй дозировки адреналина были использованы 12 белых - мышей самцов, из которых 8 составили опытную и 4 контрольную группу, которые были разделены методом случайной выборки. По истечении семидневного наблюдения, животным опытной группы внутривентриально вводили глицин в дозе 100 мг/кг в течение 10 дней. Изначально все животные были с одинаковой массой тела. Однако в день проведения эксперимента средняя масса мышей контрольной группы равнялась $20,03 \pm 0,39$ г, а опытной группы – $22,29 \pm 0,50$ г. На 11 день всем подопытным ввели однократно адреналин в дозе 10 мг/кг, подкожно. После введения адреналина регистрировали продолжительность жизни мышей до наступления смерти. Эффективность препарата оценивалась по увеличению время смерти подопытных животных.

Количество больных и их данные:

В исследовании были использованы 92 белые экспериментальные мыши- самцы, с 20-24 гр массой тела.

Критерии включения больных в исследование и критерии исключения:

В исследование не включали больных. Опыты проводились на экспериментальных животных. Об антигипоксическом действии глицина судили по длительности времени гибели животных в условиях

экспериментальной гипоксии. Эффективность препарата в состоянии гипердреналинемии оценивалась по увеличению времени наступления смерти подопытных животных при введении токсических доз адреналина.

Клинические, лабораторные и функциональные критерии, оценивающие результаты и их градация.

Эффективность изученного препарата оценивалась по увеличению резистентности подопытных животных к острой нормо- и гипоксической гипоксии при его применении, а также по увеличению времени наступления смерти при гипердреналинемии.

В 1-ой серии опыта для изучения возможного антигипоксического действия глицина, в первую очередь, нами была выбрана самая простая экспериментальная модель – тест “асфиксии утопления”. При этом животным глицин вводили в дозе 100 мг/кг массы тела и через час проводили тест. Учитывая зависимость содержания кислорода от массовых (весовых) показателей живых систем нами для контрольной и опытной групп были выбраны мыши с одинаковой массой тела. Так вес мышей контрольной группы равнялся $23,00 \pm 0,35$ г, а опытной – $23,95 \pm 0,33$ г. Полученные результаты показали, что время асфиксической гибели мышей контрольной группы колебалась от 60 до 102 секунд. При этом среднее значение равнялось $80,88 \pm 5,86$ с. Время асфиксической гибели мышей, которым был введен глицин колебалась от 78 до 150 секунд. Среднее значение в опытной группе равнялось $106,75 \pm 6,52$ с. Следовательно, введение глицина в дозе 100 мг/кг массы тела экспериментальным животным привело к статистически значимому пролонгированию времени асфиксической гибели на 31,2 % ($P < 0,001$).

Во 2-ой серии экспериментов было использовано 30 мышей – 10 контрольных и 20 опытных. Животным глицин также вводили в дозе 100 мг/кг массы тела, в течении 10 дней и на 11-е сутки проводили эксперименты. В данном случае для контрольной и опытной групп также были выбраны мыши с одинаковой массой тела. Так вес мышей контрольной группы равнялась $23,19 \pm 0,49$ г, а опытной – $23,36 \pm 0,38$ г. Полученные результаты показали, что длительность жизни мышей контрольной группы колебалась от 564 до 836 секунд. При этом среднее значение равнялось $702,6 \pm 29,8$ секунде. Длительность жизни мышей, которым был введен глицин колебалась от 670 до 1160 секунд. Среднее значение в опытной группе равнялось $911,5 \pm 35,3$ с. Следовательно, введение глицина в дозе 100 мг/кг массы тела экспериментальным животным в течении 10 дней привело к статистически значимому

продолгованию времени гибели при нормобарической гипоксии с гиперкапнией на 29,7 % ($P < 0,001$).

В 3-ей серии экспериментов для исследований были выбраны белые мыши самцы со средней массой для контрольной группы $21,16 \pm 0,43$ г и $21,52 \pm 0,58$ г для опытной группы. Полученные результаты показали, что при введении адреналина в дозе 3,5 мг/кг массы тела длительность жизни контрольных мышей колебалась от 260 до 410 с. Среднее значение при этом равнялась $337,5 \pm 26,6$ с. У мышей опытной группы, которым однократно вводили глицин в дозе 100 мг/кг наблюдался разброс длительности жизни от 720 до 1160 с. Среднее значение равнялось $912,5 \pm 56,4$ с. Следовательно, введение глицина однократно в дозе 100 мг/кг массы тела экспериментальным животным до введения адреналина привело к статистически значимому пролонгированию длительности жизни мышей при введении адреналина на 170,4 % ($P < 0,001$). В данной дозе адреналина (3,5 мг/кг) часть животных выжила, что позволило нам определить смертность животных от адреналинового поражения сердца. Расчёты показали, что если контрольной группе погибли половина экспериментальных животных (смертность 50 %), то в группе с глицином смертность составила 44,4 %.

И в 4-ой серии нами была использована доза адреналина в 10 мг/кг массы тела. Для исследований изначально были выбраны белые мыши самцы с одинаковой массой тела. Однако на 11-й день (день проведения эксперимента) средняя масса мышей контрольной группы равнялась $20,03 \pm 0,39$ г, а опытной группы – $22,29 \pm 0,50$ г. Разница в весе животных в 11,3 % оказалась статистически значимой ($P < 0,001$). Вероятно, это результат введения аминокислоты, которая могла бы усилить биосинтетические процессы и, таким образом, увеличивать массу тела мышей опытной группы по сравнению с контрольной. Полученные результаты показали, что при введении адреналина в дозе 10 мг/кг массы тела длительность жизни контрольных мышей колебалась от 190 до 300 с. Среднее значение при этом равнялась $248,5 \pm 22,8$ с. У мышей опытной группы, которым 10-и кратно вводили глицин в дозе 100 мг/кг наблюдался разброс длительности жизни от 296 до 530 с. Среднее значение равнялось $383,9 \pm 26,5$ с. Следовательно, длительное введение глицина в дозе 100 мг/кг массы тела экспериментальным животным до введения адреналина привело к статистически значимому пролонгированию длительности жизни мышей при введении адреналина на 154,5 % ($P < 0,001$).

Таким образом, полученные результаты однозначно свидетельствуют о наличии у глицина антигипоксического свойства. Более

того, препарат показал существенный защитный эффект при введении больших доз адреналина, который поражает в первую очередь сердечную мышцу.

Количественные показатели статистической обработки полученных результатов.

Цифровой материал статистически обрабатывали на персональном компьютере с применением пакета прикладных программ для статистического анализа. Вычисляли среднее арифметические (M), среднеквадратичное отклонение (σ), относительные величины (частота, проценты), критерий Стьюдента (t) с вычислениями вероятности ошибки (P).

Медицинские или социальные и экономические аспекты сравнительного анализа (в количественных показателях) предлагаемого метода.

На сегодняшний день большое внимание уделяется поиску природных соединений для лечения и профилактики ряда патологии на основе которых лежит гипоксическое состояние и стресс организма сопровождающееся гиперadreналиемией, так как синтетические лекарственные препараты токсический действуют на печень, и в этом плане наиболее эффективным являются естественные метаболиты как заменимая аминокислота глицин, которое не обладает гепатотоксичностью даже при применении в высоких дозах. В настоящее время ряд иностранных фармакологических фирм выпускают глицин в виде фармакологического препарата. Глицин, будучи нейромедиаторной аминокислотой, оказывают «тормозное» воздействие на нейроны, уменьшают выделение из нейронов «возбуждающих» аминокислот, таких, как глутаминовая кислота, и повышают выделение ГАМК. Фармакологический препарат глицина оказывает седативное (успокаивающее), мягкое транквилизирующее (противотревожное) и слабое антидепрессивное действие, уменьшает чувство тревоги, страха, психоэмоционального напряжения, усиливает действие противосудорожных препаратов, антидепрессантов, антипсихотиков, уменьшает проявления алкогольной и опиатной абстиненции. Обладает некоторыми ноотропными свойствами, улучшает память и ассоциативные процессы. Глицин также обладает глицин- и ГАМК-ергическим, $\alpha 1$ -адреноблокирующим, антиоксидантным, антитоксическим действием; регулирует деятельность глутаматных (NMDA) рецепторов, за счёт чего препарат уменьшает психоэмоциональное напряжение, улучшает настроение, облегчает засыпание и нормализует сон, уменьшает вегетососудистые расстройства, а также выраженность общемозговых расстройств при ишемическом инсульте и черепно-мозговой травме, уменьшает токсическое действие алкоголя и лекарственных средств,

угнетающих функции ЦНС. В целом использование глицина приведет к уменьшению затрат и к снижению количества неблагоприятных осложнений патологии, сопровождающиеся гипоксией и стрессом.

Выводы, предложения, рассуждения.

1. У экспериментальных животных в условиях экспериментальной нормобарической гипоксии наступает смерть вследствие гиперкапнии. Введение глицина в дозе 100 мг/кг массы тела экспериментальным животным в течении 10 дней привело к статистически значимому пролонгированию времени гибели при нормобарической гипоксии с гиперкапнией на 29,7 % ($P < 0,001$) по сравнению к контрольной группой. По степени увеличения времени наступления смерти животных можно судить об эффективности проведенной терапии.

2. При моделировании гипоксической гипоксии при тесте «утопления» у всех подопытных животных наступает смерть вследствие асфиксии. Введение глицина в дозе 100 мг/кг массы тела экспериментальным животным привело к статистически значимому пролонгированию времени асфиксической гибели на 31,2 % ($P < 0,001$) по сравнению к контрольной группой. По степени увеличения время асфиксической смерти мышей можно судить об эффективности проведенной терапии.

3. При гипердреналинемии однократное введение глицина в дозе 100 мг/кг массы тела экспериментальным животным до введения адреналина в дозе 3,5 мг/кг привело к статистически значимому пролонгированию длительности жизни мышей на 170,4 % ($P < 0,001$). Использование глицина при гипердреналинемии произведенного с введением адреналина данной дозировки снизило примерно на 6 % смертность подопытных животных.

4. При остром адреналиновом поражении длительное введение глицина в дозе 100 мг/кг массы тела экспериментальным животным до введения адреналина в дозе 10 мг/кг привело к статистически значимому пролонгированию длительности жизни мышей при введении адреналина на 154,5 % ($P < 0,001$). По степени увеличения время смерти мышей можно судить об эффективности проведенной терапии.

Ответственное лицо за внедрение:

**Заведующий научной
лаборатории ФМИОЗ:**



Камилов И.

“УТВЕРЖДАЮ”

Проректор по научной работе и
инновациям Ферганского
медицинского института
общественного здоровья DSc

Кадилова М.Р.

“1” декабря 2022 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

- 1. Наименования предложения:** методическая рекомендация на тему «Разработка новых способов протекции организма от острой гипоксии и гипердреналинемии».
- 2. Кем предложено, адрес исполнителя:** Ташкентский Педиатрический медицинский институт, кафедра медицинской и биологической химии, медицинской биологии, общей генетики. Богишамол 216, г. Ташкент. Исполнители: Д.А. Рашидова, д.б.н., проф. Н.М. Юлдашев.
- 3. Медицинское учреждение, в котором проводится внедрение, дата внедрения:** Научная лаборатория ФМИОЗ, __ноябрь, 2022 года.
- 4. Число общих наблюдений:** Были использованы 92 экспериментальные мыши.
- 5. Сроки внедрения:** с 11.11.22 года по 5.09.23 года.
- 6. Результаты внедренных рекомендаций периоде внедрения:**
Положительные (число наблюдений) : _____ 12 _____
Неточные (число наблюдений): _____
Отрицательные (число наблюдений) _____
- 7. Эффективность внедрения:** Применение глицина в качестве антигипоксического препарата приведет к уменьшению затрат и снижению количества неблагоприятных осложнений патологии, сопровождающиеся гипоксией и стрессом. Аналогично действующие препараты синтетического производства могут быть гепатотоксичными, и в этом плане природный метаболит глицин является совершенно безопасным.
- 8. Предложения, замечания учреждения, осуществляющее внедрения:** предложенный методическая рекомендация является эффективным и целесообразно внедрить метод в научно-исследовательскую практику.

Ответственное лицо за внедрение:

Заведующий научной
лаборатории ФМИОЗ:



Камилов И.