

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ОЦЕНКА ГИПОКСИИ И НЕЙРОПРОТЕКЦИЯ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ
УГАРНЫМ ГАЗОМ**

Худайкулов Зокир Уралович – ассистент кафедры Нормальной и патологической физиологии Ташкентского государственного медицинского университета

Азимова Севара Бахадировна - DSc, профессор кафедры Нормальной и патологической физиологии Ташкентского государственного медицинского университета

Ахмедова Дилафруз Бахадировна - DSc, доцент кафедры Нормальной и патологической физиологии Ташкентского государственного медицинского университета

Аннотация: **Цель** исследования: Оценка нейропротекторного эффекта пирацетама и метиленового синего при отравлении угарным газом (CO) с использованием биомаркеров гипоксии HIF-1 α и повреждения нервной ткани S100B.

Материалы и методы: Экспериментальное исследование выполнено на 120 белых беспородных крысах, разделённых на 4 группы по 30 животных: интактная группа, контрольная группа (отравление угарным газом) и две опытные группы, получавшие пирацетам и метиленовый синий.

Моделирование отравления угарным газом проводилось в экспериментальных условиях путём воздействия CO (с заданной концентрацией и экспозицией). После интоксикации животным опытных групп вводили пирацетам и метиленовый синий в соответствующих дозах.

Для оценки гипоксического повреждения определяли уровни HIF-1 α и S100B в сыворотке крови и спинномозговой жидкости. Исследование проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА). Статистическую обработку данных выполняли с использованием вариационных методов, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Заключение: Отравление угарным газом сопровождается выраженной гипоксией и нейротоксическим повреждением, что проявляется значительным повышением уровней HIF-1 α и S100B. Применение нейропротекторной терапии способствует снижению данных показателей, что свидетельствует об уменьшении гипоксического стресса и повреждения нервной ткани.

Метиленовый синий продемонстрировал более выраженный терапевтический эффект по сравнению с пирацетамом, обеспечивая более эффективную коррекцию гипоксических нарушений и защиту нейроглиальных структур.

Комплексная оценка биомаркеров HIF-1 α и S100B может быть использована как надёжный критерий тяжести гипоксии и эффективности нейропротекторной терапии при отравлении угарным газом..

Ключевые слова: угарный газ, гипоксия, нейропротекция, HIF-1 α , S100B, пирацетам, метиленовый синий, мозговое повреждение, биомаркеры, экспериментальное исследование.

Abstract: Objective: To evaluate the neuroprotective effects of piracetam and methylene blue in carbon monoxide (CO) poisoning using hypoxia biomarker HIF-1 α and neural tissue damage marker S100B.

Materials and Methods: An experimental study was conducted on 120 outbred white rats divided into four groups of 30 animals each: an intact group, a control group (carbon monoxide poisoning), and two experimental groups treated with piracetam and methylene blue.

Carbon monoxide poisoning was modeled under experimental conditions by exposure to CO (with specified concentration and duration). After intoxication, animals in the experimental groups received piracetam and methylene blue at appropriate doses.

To assess hypoxic damage, the levels of HIF-1 α and S100B were determined in blood serum and cerebrospinal fluid. The analysis was performed using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Statistical analysis was conducted using variation methods, with differences considered significant at $p < 0.05$.

Conclusion: Carbon monoxide poisoning is accompanied by pronounced hypoxia and neurotoxic damage, manifested by a significant increase in HIF-1 α and S100B levels. The use of neuroprotective therapy reduces these indicators, indicating a decrease in hypoxic stress and neural tissue damage.

Methylene blue demonstrated a more pronounced therapeutic effect compared to piracetam, providing more effective correction of hypoxic disorders and protection of neuroglial structures.

The combined assessment of HIF-1 α and S100B biomarkers can be used as a reliable criterion for evaluating the severity of hypoxia and the effectiveness of neuroprotective therapy in carbon monoxide poisoning.

Keywords: carbon monoxide, hypoxia, neuroprotection, HIF-1 α , S100B, piracetam, methylene blue, brain injury, biomarkers, experimental study.

Annotatsiya: Tadqiqot **maqsadi:** Uglerod oksidi (CO) bilan zaharlanishda pirasetam va metilen ko'kning neyroprotektiv ta'sirini HIF-1 α gipoksiya biomarkeri va S100B nerv to'qimasi shikastlanish biomarkeri asosida baholash.

Materiallar va usullar: Eksperimental tadqiqot 120 ta oq, naslsiz laboratoriya kalamushlarida o'tkazildi. Hayvonlar 4 guruhga (har birida 30 tadan): intakt guruh, nazorat guruhi (CO bilan zaharlantirilgan) hamda pirasetam va metilen ko'k bilan davolangan ikki tajriba guruhiga bo'lindi.

Uglerod oksidi bilan zaharlanish eksperimental sharoitda CO ta'siri (ma'lum konsentratsiya va ekspozitsiya davomiyligi) orqali modellastirildi. Intoksikatsiyadan so'ng tajriba guruhidagi hayvonlarga pirasetam va metilen ko'k tegishli dozada yuborildi.

Gipoksik shikastlanishni baholash uchun qon zardobi va orqa miya suyuqligida HIF-1 α va S100B darajalari aniqlandi. Tadqiqot immunoferment tahlil (ELISA) usuli yordamida amalga oshirildi. Statistika ishlari berish variatsion usullari asosida olib borildi, farqlar $p < 0,05$ da ishonchli deb qabul qilindi.

Xulosa: Uglerod oksidi bilan zaharlanish kuchli gipoksiya va neyrotoksik shikastlanish bilan kechadi, bu esa HIF-1 α va S100B darajalarining sezilarli oshishi bilan namoyon bo'ladi. Neyroprotektiv terapiya qo'llanilishi ushbu ko'rsatkichlarning kamayishiga olib keladi, bu esa gipoksik stress va nerv to'qimasi shikastlanishining kamayganini ko'rsatadi.

Metilen ko'k pirasetamga nisbatan ancha yuqori terapevtik samaradorlikni namoyon etdi, ya'ni gipoksik buzilishlarni samaraliroq tuzatdi va neyrogliyal tuzilmalarni himoya qildi.

HIF-1 α va S100B biomarkerlarini kompleks baholash gipoksiya og'irligini va neyroprotektiv terapiya samaradorligini aniqlashda ishonchli mezon bo'lib xizmat qilishi mumkin.

Kalit so'zlar: uglerod oksidi, gipoksiya, neyroproteksiya, HIF-1 α , S100B, pirasetam, metilen ko'k, miya shikastlanishi, biomarkerlar, eksperimental tadqiqot.

Введение. В условиях стремительного развития современного индустриального общества, характеризующегося высокой плотностью застройки, интенсивным транспортным потоком и повсеместным использованием систем отопления и промышленного оборудования, проблема отравления угарным газом (CO) сохраняет

свою острую актуальность в клинической практике. Несмотря на наличие технических средств безопасности, интоксикация угарным газом остается одной из наиболее распространенных причин неотложных состояний, представляя прямую и серьезную угрозу не только для жизни, но и для долгосрочного качества здоровья человека. Угарный газ, являясь бесцветным, без запаха и вкуса газом, обладает исключительно высокой аффинностью к гемоглобину, которая примерно в 200–250 раз превышает сродство кислорода к тому же месту связывания. Это приводит к образованию карбоксигемоглобина (COHb), что не только физически блокирует транспортные сайты молекул гемоглобина, но и вызывает сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина влево, затрудняя высвобождение оставшегося кислорода в тканях. В результате возникает тяжелая тканевая гипоксия, которая особенно критична для органов с высоким потреблением энергии и низкой толерантностью к дефициту кислорода, таких как головной и спинной мозг, а также миокард.

В связи с этим, моделирование отравления угарным газом в экспериментальных условиях широко и активно применяется в биомедицинских исследованиях для детального изучения молекулярных и клеточных механизмов гипоксического повреждения, а также для поиска путей защиты нейронов и кардиомиоцитов [1-3]. Одним из ключевых звеньев в патогенезе клеточного ответа на гипоксию является гипоксия-индуцируемый фактор 1-альфа (HIF-1 α). В условиях нормального уровня кислорода этот транскрипционный фактор быстро деградирует, однако при дефиците кислорода он стабилизируется, транслоцируется в ядро клетки и объединяется со своим субъединицей HIF-1 β . Образовавшийся комплекс HIF-1 α /HIF-1 β регулирует экспрессию широкого спектра генов, обеспечивающих адаптацию клеток к гипоксическим условиям. Среди таких генов - эритропоэтин, способствующий увеличению массы эритроцитов; глюкозотранспортеры, усиливающие анаэробный гликолиз; и факторы роста сосудов, такие как VEGF, стимулирующие ангиогенез для улучшения кровоснабжения тканей. Таким образом, HIF-1 α играет двойственную роль: с одной стороны, он пытается защитить клетку от гибели, а с другой - его длительная активация может способствовать воспалительным реакциям и повреждению тканей.

Параллельно с изучением гипоксических путей, особое внимание уделяется оценке непосредственного повреждения нервной ткани. Белок S100B, который в норме содержится преимущественно в астроцитах - специализированных глиальных клетках центральной нервной системы, - рассматривается как высокочувствительный и специфичный биомаркер их повреждения. При гипоксическом стрессе или механическом повреждении целостность клеточных мембран астроцитов нарушается, что приводит к высвобождению S100B во внеклеточное пространство и последующему проникновению его в кровоток и спинномозговую жидкость. Уровень циркулирующего S100B коррелирует с масштабами глиальной активации, нейровоспаления и нейродеструкции, отражая степень тяжести поражения центральной нервной системы [4, 5]. Повышение концентрации S100B в крови и ликворе служит надежным индикатором интенсивности гипоксического шока и позволяет оценить глубину повреждения тканей головного мозга, что имеет важное прогностическое значение для определения тактики лечения и оценки вероятности развития отсроченных неврологических осложнений.

Гипоксическое повреждение центральной нервной системы, индуцированное интоксикацией угарным газом (оксидом углерода, CO), представляет собой сложный и многокомпонентный патофизиологический процесс, выходящий за рамки простого дефицита кислорода. Это состояние сопровождается глубокими и разветвленными биохимическими перестройками, ключевыми звеньями которых являются критическое нарушение энергетического обмена в митохондриях, массивный окислительный стресс,

опосредованный образованием активных форм кислорода (АФК), а также прогрессирующая нейрональная дисфункция и гибель клеток. Угарный газ обладает высоким сродством к гемоглобину, что приводит к формированию карбоксигемоглобина и смещению кривой диссоциации оксигемоглобина влево, тем самым резко снижая способность крови отдавать кислород тканям. Однако токсическое действие СО не ограничивается только гипоксемией: он напрямую связывается с цитохромом с-оксидазой в дыхательной цепи митохондрий, блокируя клеточное дыхание и вызывая энергетический кризис. В ответ на это активируются каскады апоптоза и некроза, усиливается выработка провоспалительных цитокинов, развивается вазогенный и цитотоксический отек мозга, а также нарушается целостность гематоэнцефалического барьера.

В связи с высокой частотой развития отсроченных когнитивных нарушений и необратимых неврологических дефектов после перенесенного отравления угарным газом, поиск и внедрение эффективных методов фармакологической коррекции этих патологических изменений приобретает первостепенное клиническое значение. Традиционная терапия гипербарической оксигенации, хотя и остается «золотым стандартом» для выведения СО, не всегда предотвращает развитие поздних осложнений, что обуславливает необходимость комбинированного подхода. Одним из наиболее перспективных направлений в современной нейротерапии является использование специализированных нейропротекторных средств, способных модулировать внутриклеточные метаболические процессы и повышать резистентность нейронов к гипоксическому и токсическому удару.

Среди таких препаратов особое внимание уделяется метиленовому синему и пирацетаму. Метиленовый синий, выступая в роли искусственного переносчика электронов, способен обходить заблокированные участки дыхательной цепи митохондрий (в частности, комплекс I и II), восстанавливая окислительно-восстановительные реакции и улучшая утилизацию кислорода клетками. Кроме того, он обладает выраженными антиоксидантными свойствами, ингибирует выработку пероксинитрита и снижает нейровоспаление. Пирацетам, являясь представителем ноотропов группы гамма-аминомасляной кислоты, оказывает влияние на текучесть клеточных мембран, улучшает синаптическую передачу, стимулирует метаболизм глюкозы и аденозинтрифосфата в мозговой ткани, а также обладает способностью снижать вязкость крови и улучшать микроциркуляцию, что критически важно для восстановления кровотока в постгипоксическом периоде.

Параллельно с разработкой терапевтических стратегий, важнейшей задачей современной экспериментальной и клинической медицины является углубленное изучение динамики специфических биомаркеров повреждения мозга. Особый интерес представляют гипоксия-индуцибельный фактор 1-альфа (HIF-1 α) и белок S100B. HIF-1 α выступает ключевым транскрипционным фактором, реагирующим на снижение уровня кислорода; его накопление запускает экспрессию генов, участвующих в ангиогенезе, эритропоэзе и адаптации метаболизма к гипоксии, однако его хроническая активация может способствовать воспалению и фиброзу. Белок S100B, выделяемый астроцитами, является высокочувствительным маркером повреждения гематоэнцефалического барьера и глиальной клетки; его повышенные уровни в сыворотке крови и спинномозговой жидкости коррелируют со степенью тяжести травмы мозга и прогнозом исхода. Оценка динамики этих маркеров в реальном времени позволяет не только точнее стратифицировать тяжесть состояния пациента, но и объективно оценивать эффективность применяемой нейропротекторной терапии, обеспечивая

персонализированный подход к лечению и минимизируя риски долгосрочных неврологических последствий.

Цель данного исследования заключалась в оценке нейропротекторного эффекта пирacetama и метиленового синего при отравлении угарным газом (CO) с использованием биомаркеров HIF-1 α и S100B.

Материалы и методы исследования. Экспериментальное исследование проводилось на 120 белых беспородных крысах. Животные были разделены на 4 группы по 30 особей в каждой: интактная группа, контрольная группа (моделируемое отравление угарным газом) и две экспериментальные группы с метиленовым синим и пирacetамом.

Отравление угарным газом проводилось в экспериментальных условиях путем воздействия CO (указаны концентрация и продолжительность воздействия). После интоксикации животным в экспериментальных группах вводили метиленовый синий и пирacetам в соответствующих дозах и способах.

Для оценки степени гипоксического повреждения определяли уровни биомаркеров HIF-1 α и S100B в сыворотке крови и спинномозговой жидкости. Образец биологического материала брали после окончания эксперимента. Показатели количественно определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Результаты обрабатывали с использованием вариационных статистических методов. Значимость различий между группами оценивалась при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Пошаговый анализ эксперимента и научная интерпретация, основанная на статистических данных, показали, что в условиях отравления угарным газом (CO) резко активируются механизмы клеточного ответа на гипоксию, что приводит к значительному повышению уровня биомаркера HIF-1 α (гипоксия-индуцируемый фактор-1 альфа). Этот показатель служит основным молекулярным индикатором дефицита кислорода в тканях, и его уровень напрямую отражает тяжесть отравления.

В контрольной группе (животные, подвергшиеся воздействию CO, но не получавшие лечения) уровень HIF-1 α в сыворотке крови увеличился на 565,5% (+465,5%), а в спинномозговой жидкости - на 1600% (+1500%) по сравнению с интактной группой. Эти изменения являются высоконадежными, со статистической значимостью $p < 0,001$. Это указывает на серьезное гипоксическое повреждение тканей головного мозга и сильную активацию компенсаторных молекулярных механизмов ответа.

В группе 1, где применялся пирacetам, уровень HIF-1 α значительно снизился по сравнению с контрольной группой, оставаясь на уровне 262,8% (+162,8%) в сыворотке и 600% (+500%) в спинномозговой жидкости. Эти результаты указывают на то, что препарат обладает антигипоксическим эффектом, но не может полностью устранить гипоксию.

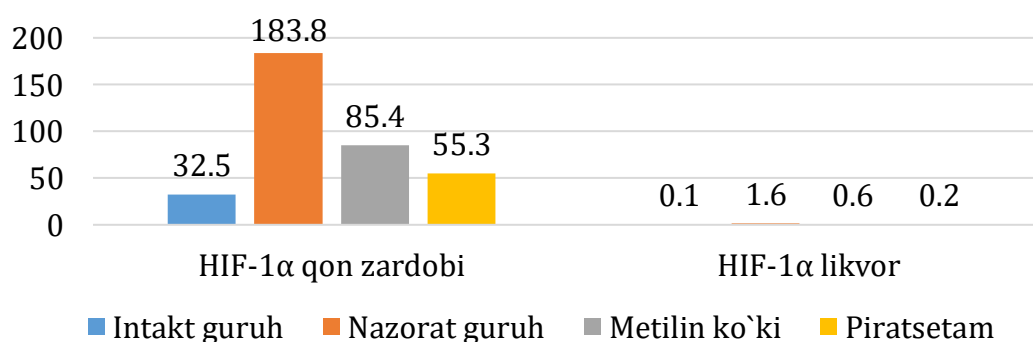


Рисунок 1. Сравнительный анализ уровней HIF-1 α в сыворотке крови и спинномозговой жидкости в исследуемых группах.

В группе 2, где применялся метиленовый синий, наблюдалась еще более выраженная положительная динамика. Уровень HIF-1 α значительно снизился по сравнению с группой, получавшей метиленовый синий, и контрольной группой, упав до 170,2% (+70,2%) в сыворотке и 200% (+100%) в спинномозговой жидкости. Эти результаты указывают на высокую эффективность метиленовый синий в улучшении клеточного метаболизма и усилении защитных механизмов против гипоксии (рис. 1).

Таким образом, результаты подтвердили резкое повышение уровня HIF-1 α при отравлении угарным газом и его снижение на фоне нейропротекторной терапии. Анализ показал, что HIF-1 α является надежным биомаркером для оценки тяжести гипоксии. В этом случае метиленовый синий показал более высокую эффективность, чем пирацетам, имея значительное преимущество в снижении гипоксических процессов и восстановлении тканей.

Результаты эксперимента показали, что в условиях отравления угарным газом (CO) в нейроглиальных клетках активируются стрессовые и повреждающие механизмы, что приводит к значительному увеличению биомаркера S100B. S100B преимущественно присутствует в астроглиальных клетках, и его уровень является надежным индикатором, отражающим степень гипоксического и токсического повреждения в тканях головного мозга.

В контрольной группе (необработанные животные, подвергшиеся воздействию CO) уровень S100B в сыворотке увеличился на 533% (+433%) по сравнению с интактной группой, а в спинномозговой жидкости - на 467% (+367%). Эти изменения статистически значимы на уровне $p < 0,001$ с высокой степенью достоверности, что указывает на тяжесть гипоксических процессов и активацию нейроглиальных стрессовых механизмов.

В группе 1, получавшей пирацетам, уровень S100B значительно снизился по сравнению с контрольной группой, оставаясь на уровне 267% (+167%) в сыворотке и 258% (+158%) в спинномозговой жидкости. Эти результаты подтверждают нейропротекторные свойства метиленового синего, но он не может полностью устранить гипоксическое повреждение. В группе 2, получавшей метиленовый синий, уровень S100B был еще более выраженным, снизившись до 167% (+67%) в сыворотке и 171% (+71%) в спинномозговой жидкости. Это указывает на то, что пирацетам обладает эффективным защитным действием против гипоксического повреждения и высокоэффективен в улучшении клеточного метаболизма (Рисунок 2).

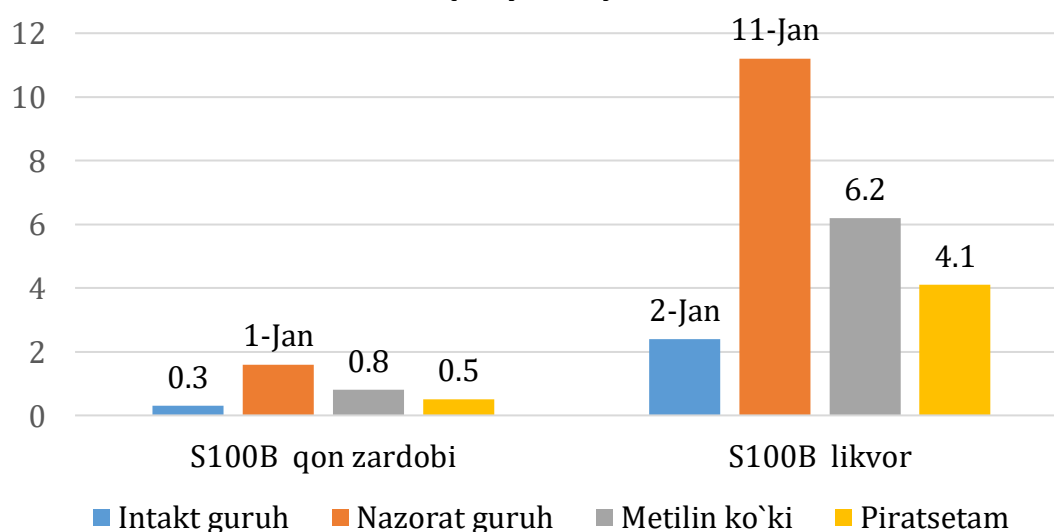


Рисунок 2. Сравнительный анализ уровней S100B в сыворотке и спинномозговой жидкости в исследуемых группах.

В заключение, уровни S100B значительно повышаются при отравлении угарным газом и снижаются на фоне нейропротекторной терапии. Эти результаты подтверждают возможность использования S100B в качестве надежного биомаркера для оценки степени гипоксического повреждения. Пирацетам продемонстрировал превосходную эффективность по сравнению с метиленовым синим, что дает ему преимущество в снижении гипоксических процессов и восстановлении тканей.

Результаты исследования демонстрируют выраженную активацию механизмов клеточного ответа на гипоксию при отравлении угарным газом (CO). Существенное повышение уровня HIF-1 α в сыворотке крови и спинномозговой жидкости в контрольной группе подтверждает тяжесть гипоксического повреждения и активность компенсаторных молекулярных механизмов. Данные показатели подтверждают, что HIF-1 α является надежным маркером степени дефицита кислорода в тканях и отражает тяжесть токсического воздействия CO.

Применение пирацетама позволило снизить уровень HIF-1 α по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о его антигипоксическом эффекте. Однако полное восстановление показателей не достигнуто, что указывает на ограниченную способность препарата устранять гипоксию. В свою очередь, метиленовый синий продемонстрировал более выраженное снижение HIF-1 α , что подтверждает его высокую эффективность в улучшении клеточного метаболизма и усилении защитных механизмов нейронов.

Анализ уровня S100B показал, что отравление CO сопровождается выраженным повреждением нейроглиальных клеток, отражающимся в значительном увеличении концентрации белка в сыворотке и спинномозговой жидкости. Снижение показателя S100B на фоне терапии метиленовым синим и пирацетамом свидетельствует о нейропротекторных свойствах препаратов, при этом метиленовый синий проявил наибольшую эффективность. Это подтверждает его потенциал для защиты астроглиальных клеток и восстановления структурных и функциональных параметров головного мозга.

Таким образом, исследование подтверждает, что сочетание количественной оценки HIF-1 α и S100B позволяет объективно оценивать тяжесть гипоксии и нейротоксического повреждения, а также эффективность нейропротекторной терапии. Метиленовый синий показал явное преимущество перед пирацетамом, что делает его перспективным средством для коррекции гипоксических процессов при отравлении CO.

Выводы исследования подчеркивают необходимость использования комплексного подхода, включающего как биомаркеры гипоксии, так и показатели нейроглиального стресса, для мониторинга состояния пациентов и оценки терапевтической эффективности.

Выводы.

1. Отравление угарным газом (CO) вызывает выраженную гипоксию тканей головного мозга, что подтверждается значительным повышением уровней HIF-1 α и S100B в сыворотке крови и спинномозговой жидкости.
2. HIF-1 α является надежным биомаркером дефицита кислорода в тканях и позволяет количественно оценивать тяжесть гипоксического поражения.
3. S100B отражает степень повреждения нейроглиальных клеток и служит индикатором нейротоксического воздействия при отравлении CO.

4. Применение нейпротекторной терапии снижает уровни HIF-1 α и S100B, что свидетельствует о защите клеток мозга и улучшении метаболических процессов.
5. Метиленовый синий демонстрирует более высокую эффективность по сравнению с метиленовым синим в снижении гипоксических процессов и восстановлении структуры и функции нейронов.
6. Комплексная оценка HIF-1 α и S100B позволяет объективно мониторить состояние пациентов и оценивать эффективность терапевтических вмешательств.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rose J. J. et al. Carbon monoxide poisoning: pathogenesis, management, and future directions of therapy //American journal of respiratory and critical care medicine. – 2017. – Т. 195. – №. 5. – С. 596-606.
2. Гребенюк А. Н., Быков В. Н. Оксид углерода: механизм токсического действия, патогенез и клинические проявления острой интоксикации //Токсикологический вестник. – 2021. – Т. 29. – №. 3. – С. 4-9.
3. Afzal M. et al. Carbon monoxide poisoning: diagnosis, prognostic factors, treatment strategies, and future perspectives //Diagnostics. – 2025. – Т. 15. – №. 5. – С. 581.
4. Tirpe A. A. et al. Hypoxia: overview on hypoxia-mediated mechanisms with a focus on the role of HIF genes //International journal of molecular sciences. – 2019. – Т. 20. – №. 24. – С. 6140.
5. Arrais A. C. et al. S100B protein: general characteristics and pathophysiological implications in the Central Nervous System //International Journal of Neuroscience. – 2022. – Т. 132. – №. 3. – С. 313-321.