

С.Б. Оникиенко<sup>1</sup>, А.В. Земляной<sup>2</sup>, А.В. Чумаков<sup>1</sup>,  
А.С. Свистов<sup>1</sup>, Ю.И. Листогадов<sup>1</sup>, В.И. Попов<sup>1</sup>

## Стратегия активации реакций адаптации при экстремальных глубоководных погружениях на основе применения защитных белков теплового шока-70

<sup>1</sup>Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека, Ленинградская область, Всеволожский р-н, пос. Кузьмолowo

**Резюме.** Длительное пребывание под повышенным давлением на предельных глубинах (300–500 м) связано с критической перегрузкой функциональных систем человеческого организма. Для активации реакций сверхадаптации, профилактики и лечения декомпрессионной болезни при экстремальных глубоководных погружениях применяли белки теплового шока-70 и их производные пролонгированного действия – конъюгаты с полиэтиленгликолем и гибридные белки на основе Fc-фрагмента антител человека и белков теплового шока-70. Препараты вводили внутривенно в дозе 50 мкг на крысу через 3–5 мин после изъятия животных из барокамеры, где они находились под повышенным давлением воздуха (750 кПа) в течение 90 мин. Установлено, что белки теплового шока-70, их конъюгаты с полиэтиленгликолем и гибридные белки теплового шока с Fc-фрагментом антител человека значительно снижают частоту возникновения и выраженность симптомов декомпрессионной болезни у крыс. В пробе «рота-род» у животных, получивших белки теплового шока-70 работоспособность снижается на 10%, у интактных крыс – на 40%. Защитные свойства конъюгата белка теплового шока-70 с полиэтиленгликолем и гибридного белка теплового шока с Fc-фрагментом антител человека повышены в сравнении с не модифицированным белком теплового шока-70. Показано, что реакция сверхадаптации акванавтов при барокамерной симуляции глубоководных погружений (давление воздуха 750 кПа) сопровождается повышением в 3–11 раз уровня белка теплового шока в сыворотке крови. Отсутствие повышения или снижение белка теплового шока-70 при экстремальных глубоководных погружениях (300–500 м) свидетельствуют о дезадаптации и являются основанием для применения заместительной терапии – экзогенных защитных белков стресса. Препараты на основе белков теплового шока-70, их конъюгаты с полиэтиленгликолем, гибридные белки теплового шока-70 с Fc-фрагментом антител человека являются перспективными средствами активации реакций сверхадаптации при экстремальных глубоководных погружениях, профилактики и лечения декомпрессионной болезни у акванавтов.

**Ключевые слова:** акванавты, сверхадаптация, декомпрессионная болезнь, экстремальные глубоководные погружения, белки теплового шока-70.

**Введение.** Акванавты часто осуществляют глубоководные (300–500 м) погружения с длительным пребыванием под повышенным давлением. Сверхадаптация в ответ на экстремальную гипербаррию проявляется стойким замедлением метаболизма клеток, повышением работоспособности и выносливости, способности надолго задерживать дыхание [1, 4]. Патологические реакции, которые развиваются непосредственно после погружений или в отдаленном периоде при систематических спусках под воду могут быть клиническими проявлениями острой или хронической декомпрессионной болезни (ДКБ) [5]. Отсроченные патологические изменения развиваются в нервной, костно-мышечной, сердечно-сосудистой, дыхательной системах [2, 3]. Разработка новых средств защиты от поражений при экстремальных глубоководных погружениях является актуальной задачей военной и адаптационной медицины [6–8].

**Цель исследования.** Выявить перспективность применения рекомбинантных белков теплового шока-

70 (БТШ70) и их производных пролонгированного действия для активации реакций сверхадаптации, профилактики и лечения ДКБ при экстремальных глубоководных погружениях.

**Материалы и методы.** БТШ70 применяли для лечения ДКБ у экспериментальных животных. Использовали рекомбинантные БТШ70 и препараты пролонгированного действия – конъюгат БТШ70 с полиэтиленгликолем (БТШ70-ПЭГ), гибридные белки на основе БТШ70 и Fc-фрагмента антител человека (БТШ70-Fc). Исследование проведено на 100 беспородных белых крысах-самцах с массой тела 190–240 г, которые были разделены на 5 групп (n=20). Препараты БТШ70 вводили крысам внутривенно в дозе 50 мкг на крысу через 3–5 мин после изъятия животных из барокамеры. Животным 1-й группы вводили рекомбинантный БТШ70, 2-й группы – БТШ70-ПЭГ, 3-й группы – БТШ70-Fc, 4-й группы – физиологический раствор в тех же объемах (контроль), 5-я группа – интактные животные. Животных 1–4-й групп подвергали воздей-

ствию повышенного давления воздуха (750 кПа, экспозиция 90 мин) в барокамере. По завершении изопрессии проводили безостановочную декомпрессию со скоростью 200 кПа/мин. В течение 30 мин после изъятия животных из барокамеры проводили оценку клинического состояния животных. Регистрировали поведенческие реакции и исследовательскую активность животных в пробе «открытое поле» через 1 сутки эксперимента, используя аппарат для исследования поведенческих реакций «открытое поле» «Actimot2/MoTiL2» фирмы «TSE» (Германия). Работоспособность животных оценивали через 1 сутки эксперимента с использованием прибора «Rota-Rod/RS Harvard» фирмы «PanLab» (Соединенные Штаты Америки).

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что введение БТШ70 препятствует развитию клинических проявлений ДКБ в сравнении с показателями контрольной группы животных. Патологические реакции, характерные для острой ДКБ в контрольной группе встречались в 73,3% случаев, в группе животных, получавших БТШ70, – в 45,6%. Введение производных БТШ70 пролонгированного действия (БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc) снижало частоту возникновения обусловленных ДКБ патологических реакций в 2,5–3,4 раза (табл. 1).

Таблица 1

**Наличие симптомов ДКБ через 30 мин после изъятия крыс из барокамеры, % (M±m)**

Симптом	Группа животных				
	1	2	3	4	
Судороги	30	15	10	75	
Нарушение паттерна дыхания	40	25	15	85	
Парез конечностей	передних	15	5	5	60
	задних	10	5	–	45
Неустойчивость передвижения	45	25	20	90	

Выраженность клинических проявлений ДКБ в группах животных, получавших БТШ70, были достоверно менее выражены в сравнении с контрольной группой животных. При проведении исследований в пробе «рота-род» в группе животных, получавших БТШ70, установлено снижение максимального уровня работоспособности на 10% в сравнении с

интактными животными (в контрольной группе – на 40%).

Выявлено, что при введении препаратов БТШ70 происходит снижение частоты случаев и выраженности симптомов ДКБ. Препараты БТШ70 пролонгированного действия (БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc) обладают более выраженными защитными свойствами в сравнении с немодифицированным рекомбинантным БТШ70 (табл. 2).

Эти результаты послужили основанием для проведения исследований по изучению эффективности защитных белков стресса для профилактики и лечения ДКБ у акванавтов, повышения их выносливости и работоспособности, активации реакций сверхадаптации. Предварительные результаты, полученные при обследовании 32 акванавтов, свидетельствуют о том, что реакция сверхадаптации при барокамерной симуляции экстремальных глубоководных погружений (300–500 м) сопровождается повышением уровня БТШ70 в сыворотке крови в 3–11 раз. Отсутствие повышения уровня БТШ70 или его снижение в ответ на вышеуказанные экстремальные воздействия свидетельствует о развитии дезадаптации и является основанием для применения экзогенных рекомбинантных защитных белков стресса – БТШ70.

**Заключение.** Рекомбинантные защитные белки стресса: БТШ70 и их производные пролонгированного действия – БТШ70-ПЭГ) и БТШ70-Fc являются перспективными средствами активации реакций сверхадаптации при экстремальных глубоководных (300–500 м) погружениях, профилактики и лечения декомпрессионной болезни у акванавтов.

**Литература**

1. Чумаков, А.В. Модификация клеточного метаболизма у акванавтов ВМФ / А.В. Чумаков [и др.] // Клинич. патофизиология. – СПб, 2011. – № 1 – 3. – С. 82–83.
2. Чумаков, А.В. Состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем у лиц, длительно пребывавших под повышенным давлением на предельных глубинах: дисс. ... канд. мед. наук / А.В. Чумаков. – СПб, 2007. – 301 с.
3. Чумаков, А.В. «Лёгкое водолаза»: особенности ремоделирования системы органов дыхания у акванавтов ВМФ в период отдалённых последствий глубоководных насыщенных спусков / А.В. Чумаков, И.Е. Сухорослова, Н.В. Шарова // Воен.-мед. журн. – 2013. – Т. 334. – № 1. – С. 44–48.
4. Юрьев, А.Ю. Динамика неспецифических адаптационных реакций при действии на организм факторов повышенного давления / А.Ю. Юрьев, А.Ю. Шитов, И.А. Панченкова, М.Ю.

Таблица 2

**Влияние БТШ70 на поведенческие реакции крыс через 1 сут после гипербарии, M±m**

Показатель	Группа животных				
	1	2	3	4	5
Горизонтальный компонент двигательной активности	20,17±1,13*	2924±2,34*	31,24±2,34*	1,24±2,96	33,21±3,43
Вертикальный компонент двигательной активности	3,19±0,12*	3,27±0,46*	3,89±0,84*	0,46±0,05	4,01±0,68
«Норковый» рефлекс	2,87±0,32*	3,42±0,36*	3,60±0,18*	0,32±0,07	4,12±0,59
Двигательная реакция «умывания»	2,16±0,34*	2,76±0,53*	2,89±0,71*	1,01±0,26	3,23±0,92
Количество испражнений, болюсы	1,67±0,54	1,62±0,34	1,82±0,56	1,24±0,71	2,08±0,49

**Примечание:** \* – различия по сравнению с 4-й группой, p≤0,05.

- Ярославцев // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2012.– № 3 (39). – С. 141–145.
5. Blatteau, J.E. Pre-dive sauna and venous gas bubbles upon decompression from 400 kPa / J.E. Blatteau [et al.] // Aviat. space environ. med.– 2008.– Vol. 79, № 12. – P. 1100–1105.
6. Djurhuus, R. Simulated diving after heat stress potentiates the induction of heat shock protein 70 and elevates glutathione in human endothelial cells / R. Djurhuus [et al.] // Cell. stress chaperones. – 2010. – Vol. 15, № 4. – P. 405–414.
7. Lee, H.C. Serum heat shock protein after simulated deep diving in Navy divers / H.C. Lee [et al.] // Chin. j. physiol.– 2009.– Vol. 52.– № 5.– P. 295–298.
8. Ni, X.X. Heat-shock protein 70 is involved in hyperbaric oxygen preconditioning on decompression sickness in rats / X.X. Ni [et al.] // Exp. biol. med. – 2013. – Vol. 238. – № 1. – P. 12–22.

S.B. Onikiyenko, A.V. Zemlyanoi, A.V. Chumakov, A.S. Svistov, Yu.I. Listopadov, V.I. Popov

### Heat shock protein-70 based strategy for activation of adaptation reactions during extreme superdeep diving

**Abstract.** Long pressurized stay at extreme depths (300–500 m) is associated with a critical overload of functional systems of the human body. To activate superadaptation reactions, prevention and treatment of decompression sickness extreme deep dives applied heat shock proteins 70-derivatives and their long-acting – polyethyleneglycol conjugates and fusion proteins based on Fc-fragment of human antibody and a heat shock protein-70. Drugs were injected intraperitoneally at a dose of 50 micrograms per rat within 3–5 minutes after removal of the pressure chambers of animals, where they were pressurized by air (750 kPa) for 90 min. It was established that the heat shock proteins- and their conjugates with polyethylene glycol, and the heat shock fusion proteins with Fc-fragment of human antibody significantly reduced the incidence and severity of symptoms in rats decompression sickness. In the trial, «company-kind» in animals treated with heat shock protein-70 performance is reduced by 10% in intact rats – 40%. Protective properties of a conjugate of the heat shock protein-70 and polyethylene glycol with a heat shock protein fusion to Fc-fragment of human antibody increased in comparison with the unmodified heat shock protein-70. It was shown that the reaction of superadaptation in aquanauts at altitude chamber simulating deep diving (air pressure of 750 kPa) is accompanied by an increase in 3–11 times the level of heat shock protein in the blood serum. No increase or decrease in heat shock protein-70 in extreme deep dives (300–500 m) indicate maladjustment and are the basis for substitution therapy – exogenous protective stress proteins. Preparations based on heat shock protein-70 conjugates with polyethylene glycol, the hybrid heat shock proteins-70 – Fc-fragment of human antibodies are promising tools of superadaptation activation reactions under extreme deep (300–500 m) dives, prevention and treatment of decompression sickness in aquanauts.

**Key words:** aquanauts, superadaptation, decompression sickness, extreme superdeep diving, heat shock protein-70.

Контактный телефон: 292-33-44; +7-981-8205990; e-mail: ylistopadov7@mail.ru