

Рис. Расчет величины IC_{50} амилорида по влиянию на активность Na^+/H^+ -обменника тромбоцитов кролика (моль/л)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При активации NHE-1 с помощью натрия пропionato происходит сферуляция тромбоцитов, что регистрируется по изменению светопропускания. Соединение амилорид ингибирует активность данного обменника и препятствует изменению формы тромбоцитов. Предложенная методика может быть использована для скрининга новых противоишемических соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев А. П., Стрельцова Я. Я., Сенаторов Ю. Я. // Клиническая медицина. — 2004. — № 4. — С. 59—62.

2. Перфилова В. Н., Тюренков И. Н. // Вестник ВолгГМУ. — 2005. — Т. 1, № 13. — С. 30—33.

3. Перфилова В. Н., Тюренков И. Н. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2005. — № 5. — С. 68—71.

4. Писаренко О. И. // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. — 2004. — № 9 (90). — С. 1103—1110.

5. Писаренко О. И. // Кардиология. — 2005. — № 9. — С. 62—72.

6. Fliegel L. // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. — 2008. — № 44. — P. 228—237.

7. Kim J., et al. // European Journal of Pharmacology. — 2007. — № 567. — P. 131—138.

8. Kusumoto K., et al. // British Journal of Pharmacology. — 2002. — № 135. — P. 1995—2003.

9. Mackenzie E., Fliegel M., Fliegel L. // Can. J. Physiol. Pharmacol. — 2006. — № 8. — P. 1081—1091.

10. Roskopf D., et al. // Journal of Hypertension. — 1991. — Vol. 9. — P. 231—238.

Контактная информация

Спасов Александр Алексеевич — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д. м. н., профессор, зав. кафедрой фармакологии, проректор ВолгГМУ по учебно-воспитательной работе с зарубежными студентами и международной деятельности, (8442) 94-24-23, 97-15-34, farm@vlpost.ru

УДК 615.21:547.466.3+616.831-005.4-092.9

ЦЕРЕБРОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Е. В. Волотова, Д. В. Куркин, И. Н. Тюренков, А. А. Литвинов

Кафедра фармакологии и биофармации ФУВ ВолгГМУ

При острой ишемии головного мозга у крыс, вызванной двухсторонней окклюзией общих сонных артерий, новое производное гамма-аминомасляной кислоты — соединение РГПУ-189 — оказывало выраженное церебропротективное действие, сопоставимое с кавинтоном и превосходящее фенибут, пирacetам, аминалон.

Ключевые слова: ишемия головного мозга, производные гамма-аминомасляной кислоты, церебропротекция, фенибут, кавинтон, пирacetам, аминалон.

CEREBROPROTECTIVE EFFECTS OF DERIVATIVES OF GABA IN ACUTE ISCHEMIA OF RATS BRAIN

E. V. Volotova, D. V. Kurkin, I. N. Tyurenkov, A. A. Litvinov

A new derivative of GABA, RGPU-189 compound, has a marked cerebroprotective effect comparable to cavinton and superior to phenibut, piracetam, aminalon in acute cerebral ischemia induced in rats by 2-sided occlusion of common carotid arteries.

Key words: cerebral ischemia, GABA derivatives, cerebroprotective, phenibut, cavinton, piracetam, aminalon.

Среди причин преждевременной смертности ведущие позиции занимают цереброваскулярные расстрой-

ства, среди которых доминирующее положение принадлежит ишемическим поражениям головного мозга [2, 3].

Поэтому поиск эффективных средств коррекции цереброваскулярных нарушений остается актуальной задачей фармакологии. С этой точки зрения, несомненный интерес представляют производные гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), обладающие поливалентным действием на патогенетические механизмы развития острых и хронических нарушений мозгового кровообращения [5, 6].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить действие пикамилона, аминалона, кавинтона, пирацетама, фенибута и нового производного ГАМК-соединения РГПУ-189 в различных дозах на выживаемость и психо-неврологическое состояние животных в условиях острой ишемии головного мозга

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальное исследование было выполнено на половозрелых крысах-самцах линии Wistar средней массы 200—220 г со среднеактивным типом поведения [4], которые были по принципу рандомизации распределены на 10 групп по 10 животных в каждой:

1. Ложнооперированные (ЛО) физраствор.
2. Контроль-ишемия (физраствор).
3. Ишемия РГПУ-189 15 мг/кг.
4. Ишемия + ПУ-189 30 мг/кг.
5. Ишемия + РГПУ-189 45 мг/кг.
6. Ишемия + фенибут 25 мг/кг.
7. Ишемия + пикамилон 100 мг/кг.
8. Ишемия + пирацетам 800 мг/кг.
9. Ишемия + кавинтон 1,6 мг/кг.
10. Ишемия + аминалон 100 мг/кг.

Все препараты вводились внутривенно за 30 мин до наложения лигатур на общие сонные артерии.

Острая церебральная ишемия моделировалась путем полной необратимой одномоментной билатеральной окклюзии общих сонных артерий крыс под эфирным наркозом. Животным ЛО группы подводились лигатуры под общие сонные артерии без дальнейшего их затягивания. После выхода животного из наркоза через 6, 12, 24, 48 и 72 часа оценивали количество летальных исходов и неврологический дефицит у выживших крыс по балльной шкале McGrow в модификации Ганнушкиной И. В. [1]. В качестве дополнительного показателя, отражающего неврологический дефицит животных, был использован тест удержания на вертикальной экран-сетке, оценка которого дает представление о мышечном тоне.

Для оценки когнитивной и мнестической функции использовались стандартные тесты: «Условная реакция пассивного избегания» (УРПИ) и «Тест экстраполяционного избегания» (ТЭИ). Обучение в тесте УРПИ проводилось за сутки до моделирования патологии, а в тесте ТЭИ — на этапе типизации животных. Для оценки поведенческого и психо-эмоционального состояния животных использован тест «Открытое поле» (ОП). Тестирование животных в стандартных психофармакологических тестах (ОП, ТЭИ, УРПИ) проводилось через 72 часа после моделирования церебральной ишемии.

Обработку данных проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel и BioStat 2008 5.2.5.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные о динамике гибели животных после билатеральной окклюзии общих сонных артерий представлены в табл. 1. Так, максимальная гибель животных в ходе эксперимента была отмечена в контрольной группе и составила 80 %. Смерть животных наблюдалась уже в первые 6 часов после моделирования патологии, при этом наибольший процент летальности был отмечен в течение первых 24 часов. Все исследуемые вещества, но в большей степени соединение РГПУ-189 в дозе 30 мг/кг и кавинтон в дозе 1,6 мг/кг уменьшали гибель крыс после перевязки сонных артерий. Следует отметить, что только среди крыс, получавших соединение РГПУ-189 и кавинтон, первые летальные исходы наблюдались в интервале от 6 до 12 часов после перевязки общих сонных артерий, что имеет практическое значение большего «окна», необходимого для организации интенсивной терапии.

Далее через 48 часов после моделирования патологии получены достоверные отличия между показателями контрольной группой и группами животных, которым вводили кавинтон и РГПУ-189 в дозе 30 мг/кг.

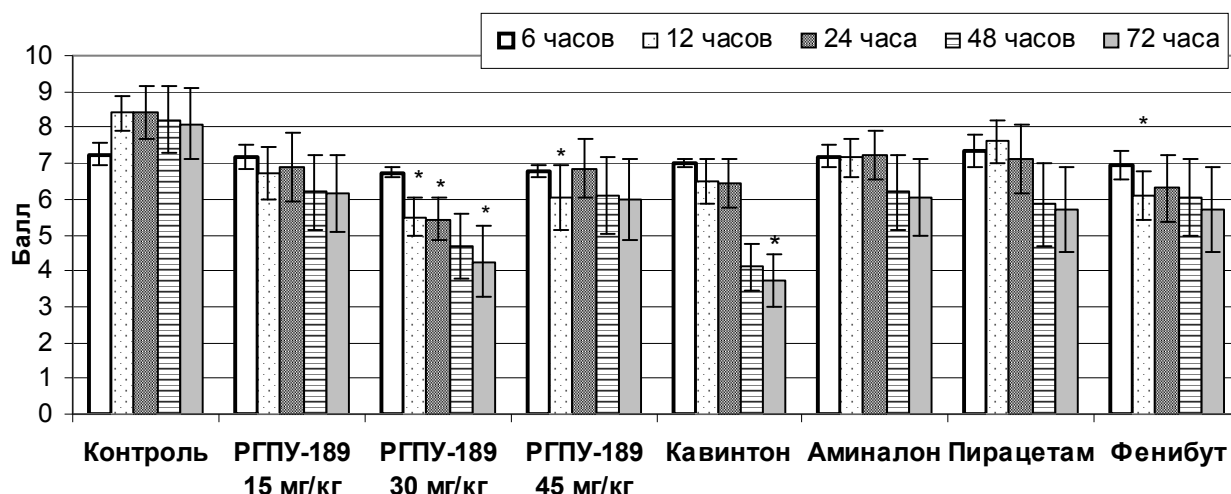
Таблица 1

Влияние исследуемых соединений на выживаемость животных в условиях острой ишемии

| Группа | Выживаемость животных после острой ишемии | | | | | | | | | |
|-------------------|---|----|----------|----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|
| | 6 часов | | 12 часов | | 24 часа | | 48 часа | | 72 часа | |
| | n/N | % | n/N | % | n/N | % | n/N | % | n/N | % |
| Контроль | 1/10 | 10 | 3/10 | 30 | 7/10 | 70 | 8/10 | 80 | 8/10 | 80 |
| РГПУ-189 15 мг/кг | 1/10 | 10 | 3/10 | 30 | 4/10 | 40 | 4/10 | 40 | 4/10 | 40 |
| РГПУ-189 30 мг/кг | 0/10 | 0 | 1/10 | 10 | 1/10 | 10* | 2/10 | 20* | 2/10 | 20* |
| РГПУ-189 45 мг/кг | 0/10 | 0 | 2/10 | 20 | 3/10 | 30 | 4/10 | 40 | 4/10 | 40 |
| Фенибут | 1/10 | 10 | 2/10 | 20 | 3/10 | 30 | 4/10 | 40 | 4/10 | 40 |
| Аминалон | 1/10 | 10 | 2/10 | 20 | 3/10 | 30 | 4/10 | 40 | 4/10 | 40 |
| Кавинтон | 0/10 | 0 | 2/10 | 20 | 2/10 | 20 | 2/10 | 20* | 2/10 | 20* |
| Пирацетам | 2/10 | 20 | 3/10 | 30 | 4/10 | 40 | 4/10 | 40 | 5/10 | 50 |

* Различия данных достоверны по отношению к контрольной группе при $p < 0,05$ (критерий χ^2).

У животных контрольной группы в условиях моделируемой ишемии головного мозга отмечался рост неврологического дефицита к 12-му часу ($8,4 \pm 0,73$), который сохранялся в последующем на одном уровне на протяжении трех суток наблюдения (рис.). У данной группы животных уже через 12 часов после моделирования патологии наблюдались маневренные движения, парезы одной из конечностей, односторонний и двусторонний блефароптозы, а также общий тремор. На протяжении последующих двух суток неврологический дефицит у них практически не менялся.



**p* < 0,05 достоверность отличий по сравнению с контрольной группой.

Рис. Влияние нового производного РГПУ-189 и препаратов сравнения на динамику неврологического дефицита после билатеральной окклюзии общих сонных артерий

Через 6 часов после перевязки сонных артерий неврологический дефицит (индекс McGrow) у животных контрольной и опытных групп практически не отличался. А через 12 часов у животных, получавших соединение РГПУ-189 во всех дозах, кавинтон и фенибут индекс, McGrow по сравнению с показателями контрольной группы был существенно ниже. В последующий период наименьшие неврологические отклонения отмечались у животных, получавших соединение РГПУ-189 в дозе 30 мг/кг и кавинтон. Среди неврологических симптомов наблюдались преимущественно манежные движения, гиподинамия животного, а также слабость одной или нескольких конечностей.

Результаты теста «вертикальной экран-сетки» коррелировали со степенью неврологического дефицита животных всех исследуемых групп (табл. 2). Так, животные, получавшие до перевязки сонных артерий соединение РГПУ-189 в дозе 30 мг/кг и кавинтон, в большем числе удерживались на экран-сетке, что свидетельствует о более высоком мышечном тоне, лучшей координации и меньшем повреждении центральной нервной системы (ЦНС). Разница в удержании на вертикальной сетки у животных, получавших исследуемые вещества, отмечены только в течение первых 24 часов после двухсторонней окклюзии сонных артерий. Через 2 и 3 суток уже все выжившие животные удержались на «экран-сетке» в течение контрольного времени.

Изменения в поведенческом статусе животных, с острой ишемией головного мозга, отражают тяжесть нарушений, вызванных недостаточностью кровообращения в вертебробазилярном бассейне. Однако, учитывая низкую выживаемость животных контрольной группы (20 %) на данной экспериментальной модели, в стандартных поведенческих тестах мы считаем целесообразным сопоставить поведенческую активность крыс с ишемией мозга, получавших исследуемое соединение и препараты сравнения, с группой ЛО животных.

При билатеральной окклюзии общих сонных артерий крыс однократное введение соединения РГПУ-189 (в дозе 30 мг/кг), фенибута и кавинтона за 30 минут до моделирования патологии оказывало выраженное нейропротекторное действие, о чем свидетельствовало сохранение показателей психоневрологического статуса: двигательной, суммарной ориентировочно-исследовательской активности, а также способности к решению экстраполяционной задачи. Так, в тесте ОП показатели двигательной активности в группах животных, получавших РГПУ-189 в дозе 30 мг/кг, фенибут и кавинтон, составляли $16,87 \pm 1,90$, $13,66 \pm 3,27$ и $14,12 \pm 2,09$ соответственно и достоверно не отличались от показателей ЛО группы ($21,3 \pm 1,16$).

Таблица 2

Количество животных, удержавшихся в тесте «вертикальная экран-сетка», получавших исследуемые вещества

| Группа | Время от момента перевязки общих сонных артерий | | | | | | | | | |
|-------------------|---|-------|----------|-------|---------|-------|---------|-----|---------|-----|
| | 6 часов | | 12 часов | | 24 часа | | 48 часа | | 72 часа | |
| | n/N | % | n/N | % | n/N | % | n/N | % | n/N | % |
| Контроль | 0/9 | 0 | 1/7 | 14,29 | 0/3 | 0 | 2/2 | 100 | 2/2 | 100 |
| РГПУ-189 15 мг/кг | 1/9 | 11,11 | 2/7 | 28,57 | 3/6 | 50 | 6/6 | 100 | 6/6 | 100 |
| РГПУ-189 30 мг/кг | 1/10 | 10 | 5/9 | 55,56 | 5/9 | 55,56 | 8/8 | 100 | 8/8 | 100 |
| РГПУ-189 45 мг/кг | 1/10 | 10 | 2/8 | 25 | 2/7 | 28,57 | 6/6 | 100 | 6/6 | 100 |
| Фенибут | 0/9 | 0 | 1/7 | 14,29 | 3/7 | 42,86 | 6/6 | 100 | 6/6 | 100 |
| Аминалон | 0/9 | 0 | 3/8 | 37,5 | 2/7 | 28,57 | 6/6 | 100 | 6/6 | 100 |
| Кавинтон | 0/10 | 0 | 5/8 | 62,5 | 6/8 | 75 | 8/8 | 100 | 8/8 | 100 |
| Пирацетам | 0/8 | 0 | 1/7 | 14,29 | 4/6 | 66,67 | 6/6 | 100 | 5/5 | 100 |

Примечание. *n* — количество животных, удержавшихся на сетке в течение 3 минут, *N* — количество животных в группе.

При оценке ориентировочно-исследовательской активности мы выявили достоверное по сравнению с группой ЛО животных ($13,10 \pm 0,72$) снижение данного показателя во всех опытных группах, однако

наименьшее снижение было зафиксировано у животных, которые получали РГПУ-189 в дозе 30 мг/кг ($10,37 \pm 0,68$), фенибут ($8,16 \pm 0,94$) и кавинтон ($7,5 \pm 0,84$).

При оценке мнестической функции в тесте УРПИ было установлено, что соединения РГПУ-189 (в дозе от 15 до 45 мг/кг), кавинтон и фенибут улучшали сохранность памятного следа при экспериментальной ишемии мозга, так как количество заходов животных вышеуказанных групп в темный отсек при воспроизведении навыка составило соответственно $0,5 \pm 0,55$; $0,1 \pm 0,35$; $0,3 \pm 0,52$; $0,1 \pm 0,35$; $0,5 \pm 0,55$, что сопоставимо с таковым в группе ложнопериорированных, в которой не было отмечено заходов в темный отсек. Кроме того, на фоне введения вышеуказанных препаратов, а также пираретама показатель скорости воспроизведения навыка подныривания у животных в тесте ТЭИ ($27,83 \pm 12,38$; $18,13 \pm 13,46$; $26,33 \pm 12,47$; $20,88 \pm 8,97$; $24,17 \pm 16,47$; $29,2 \pm 12,97$) также достоверно не отличался от аналогичного ложнопериорированных животных ($10,6 \pm 8,51$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Ишемия головного мозга, вызванная одномоментной билатеральной окклюзией общих сонных артерий, сопровождается выраженными нарушениями когнитивных и мнестической функций, психоэмоционального поведения, коррелирующего со степенью неврологического дефицита и высокой смертностью животных.

2. Однократное введение производных ГАМК — аминалона, пираретама, фенибута и, в большей мере,

соединения РГПУ-189 в дозе 30 мг/кг за 30 минут до двусторонней окклюзии общих сонных артерий оказывало выраженное нейропротективное действие.

3. Соединение РГПУ-189 достоверно и сопоставимо с кавинтоном снижало степень неврологического дефицита и выраженность мнестических и когнитивных нарушений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ганнушкина И. В. // Журн. невропатол. и психиатр. — 1996. — № 1. — С. 14.
2. Гусев Е. И., Скворцова В. И. Ишемия головного мозга. — М.: Медицина, 2001. — 327 с.
3. Суслина З. А., Варакин Ю. А., Верещагин Н. В. Судистые заболевания головного мозга: Эпидемиология. Основы профилактики. — М: МЕДпресс-информ, 2006. — 256 с.
4. Тюренков И. Н., Багметов М. Н., Епишина В. В. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2007. — Т. 70, № 2. — С. 24—29.
5. Тюренков И. Н., Бородкина Л. Е., Воронков А. В. и др. // Вестник Волгоградской медицинской академии. — 2003. — № 9. — С. 46—49.
6. Тюренков И. Н., Перфилова В. Н., Бородкина Л. Е. и др. // Вестник Волгоградской медицинской академии. — 2000. — № 6. — С. 52—56.

Контактная информация

Волотова Елена Владимировна — к. м. н., ассистент кафедры фармакологии и биофармации ФУВ ВолгГМУ, e-mail: a-zlato@mail.ru