

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 615:547.466.3:616.133

doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-4-147-151

ВЛИЯНИЕ N-(4-АЦЕТОКСИБЕНЗОИЛ)ГЛИЦИНАТА КАЛИЯ НА СЕНСОРНО-МОТОРНЫЕ И КОГНИТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

**Дмитрий Викторович Верхоляк^{1✉}, Дмитрий Александрович Бакулин²,
Иван Николаевич Тюренков³**

^{1,2,3} Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

¹verholyakdima@mail.ru✉

²mbfdoc@gmail.com

³fibfuv@mail.ru

Аннотация. Изучено влияние нового конъюгата гидроксибензойной кислоты с глицином на сенсорно-моторные и когнитивные расстройства у экспериментальных животных с хроническим нарушением мозгового кровообращения (ХНМК), которое моделировали путем стеноза просвета сонных артерий на 60 % у экспериментальных животных. Через 40 дней после операции формировали экспериментальные группы и вводили исследуемое соединение и референтный препарат (цитиколин) в течение 14 дней. Группе негативного контроля в качестве лечения вводили физиологический раствор. После лечения в тестах ротарод, адгезивного теста, распознавания нового объекта (РНО) и водного лабиринта Морриса оценивали выраженность сенсорно-моторных и когнитивных нарушений. Было отмечено, что у животных с ХНМК без лечения патология сопровождалась выраженным расстройством координации и сенсорно-моторной функции передних конечностей, а также когнитивными нарушениями (кратковременной и долговременной памяти в тестах РНО и лабиринт Морриса). Курсовое введение нового конъюгата гидроксибензойной кислоты с глицином способствовало значимому улучшению сенсорно-моторных и когнитивных функций у животных с ХНМК. Отмеченное церебропротекторное действие было сопоставимо с таковым у референтного препарата цитиколина.

Ключевые слова: гидроксибензойная кислота, глицин, хроническое нарушение мозгового кровообращения, психоневрологический дефицит, крысы

Финансирование. Работа выполнена по государственному заданию ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ № 121031700024-3.

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

INFLUENCE OF N-(4-ACETOXYBENZOYL)POTASSIUM GLYCINATE ON SENSOR-MOTOR AND COGNITIVE DISORDERS IN RATS WITH CHRONIC CEREBROVASCULAR INSUFFICIENCY

Dmitry V. Verkholyak^{1✉}, Dmitry A. Bakulin², Ivan N. Tyurenkov³

^{1,2,3} Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

¹verholyakdima@mail.ru✉

²mbfdoc@gmail.com

³fibfuv@mail.ru

Abstract. The effect of a new conjugate of hydroxybenzoic acid with glycine on sensory-motor and cognitive impairments in experimental animals with chronic cerebrovascular insufficiency (CCI) was studied. CCI was modeled in rats by stenosis of the lumen of the carotid arteries in 60 %. 40 days after the operation, experimental groups were formed and the test compound

was administered for 14 days. Citicoline was used as a reference drug, and saline was administered as placebo. After treatment with the Rotarod, Adhesion Test, Novel Object Recognition (NOR), and Morris Water Maze tests, the severity of sensory-motor and cognitive impairments was assessed. It was noted that in animals with CCI with placebo treatment, the pathology was accompanied by a pronounced impairment of coordination and sensory-motor function of the forelimbs, as well as cognitive impairments (impaired short-term and long-term memory in the NOR and the Morris maze tests). The course introduction of a new conjugate of hydroxybenzoic acid with glycine contributed to a significant improvement in sensory-motor and cognitive functions in animals with CCI. The noted neuroprotective effect was comparable to that of the reference drug citicoline.

Keywords: hydroxybenzoic acid, glycine, chronic cerebrovascular insufficiency, neurological deficit, rats

Funding. The work was carried out according to the state task of the Federal State Budgetary Educational Institution of the Volga State Medical University of the Russian Federation No. 121031700024-3.

Сосудистые заболевания головного мозга (ГМ) являются одной из ведущих причин снижения качества жизни, ранней инвалидизации и третьей по частоте причиной смерти, поэтому они остаются важнейшей социальной и экономической проблемой. К сожалению, имеющиеся лекарственные препараты не удовлетворяют пациентов и врачей по причине их невысокой эффективности [1, 2].

При коррекции последствий хронического нарушения мозгового кровообращения (ХНМК) используется широкий спектр препаратов (средства, улучшающие мозговой кровоток, полипептидные препараты, антиоксиданты и др.), которые способны замедлить на разных этапах патологические процессы в ткани ГМ и которые будут способствовать морфофункциональному восстановлению нервной ткани [3].

Поэтому поиск новых эффективных и безопасных веществ для лечения острых и хронических НМК остается актуальной задачей для химиков синтетиков и фармакологов. Производные нейромедиаторных аминокислот (таких как ГАМК, глицин, глутамат, таурин и т.д.) привлекают внимание в качестве потенциальных церебропротекторных средств, поскольку для некоторых отмечено наличие ноотропной, противогипоксической, эндотелио- и стресспротекторной активности [4]. Производные гидроксибензойных кислот также представляют интерес для поиска новых церебропротективных препаратов вследствие наличия у них противовоспалительного, антиагрегантного и антиоксидантного действия [5]. Последние 15 лет волгоградские фармакологи совместно с химиками синтетиками Волгоградского государственного медицинского университета ведут поиск веществ с нейропротективной активностью при цереброваскулярных патологиях среди различных производных нейроактивных аминокислот [5, 6].

В данной работе представлены данные, отражающие эффективность нового оригинального соединения N-(4-ацетоксибензоил)глицината калия (лабораторный шифр С-40) при хроническом нарушении мозгового кровообращения.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить влияние N-(4-ацетоксибензоил)глицината калия при коррекции сенсорно-моторных и когнитивных нарушений у экспериментальных животных в условиях ХНМК.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на 40 крысах линии Вистар 6 мес. (Филиал «Столбовая» ГУ НЦБМТ РАМН, Московская обл.).

Моделировали ХНМК стенозированием общих сонных артерий до снижения кровотока по ним на 60 % [7]. Хирургические манипуляции выполнялись под наркозом: комбинация золетила 20 мг/кг (Zoletil®100, Valdepharm, France) и ксилазина 8 мг/кг (Xyla, Interchemie, Netherlands). В течение 40 дней животные находились в стандартных условиях вивария без фармакологической терапии. В этот период головной мозг животных находился в условиях хронической ишемии, результатом чего явилось формирование ряда умеренных неврологических нарушений, проявляющихся в том числе в виде сенсорно-моторных и когнитивных расстройств [7]. После периода развития патологии были сформированы экспериментальные группы ($n = 10$), которым перорально в течение 14 дней вводили исследуемое соединение и препарат сравнения.

1. Интакт (физраствор 0,5 мл/100 г);
2. «ХНМК + физраствор» – животные с ХНМК (физраствор 0,5 мл/100 г);
3. «ХНМК + С-40» – животные с ХНМК (С-40, 9 мг/кг);
4. «ХНМК + цитиколин» – животные с ХНМК (цитиколин, 500 мг/кг).

Эффективность лечения оценивали по снижению неврологических нарушений в тестах ротарод, адгезивный тест, распознавание нового объекта и водный лабиринт Морриса. В тесте ротарод (ООО «Нейроботикс», Россия) фиксировали время удержания на вращающемся (25 об./мин) стержне. В адгезивном тесте оценивали сенсорно-моторные нарушения передних конечностей по среднему времени обнаружения

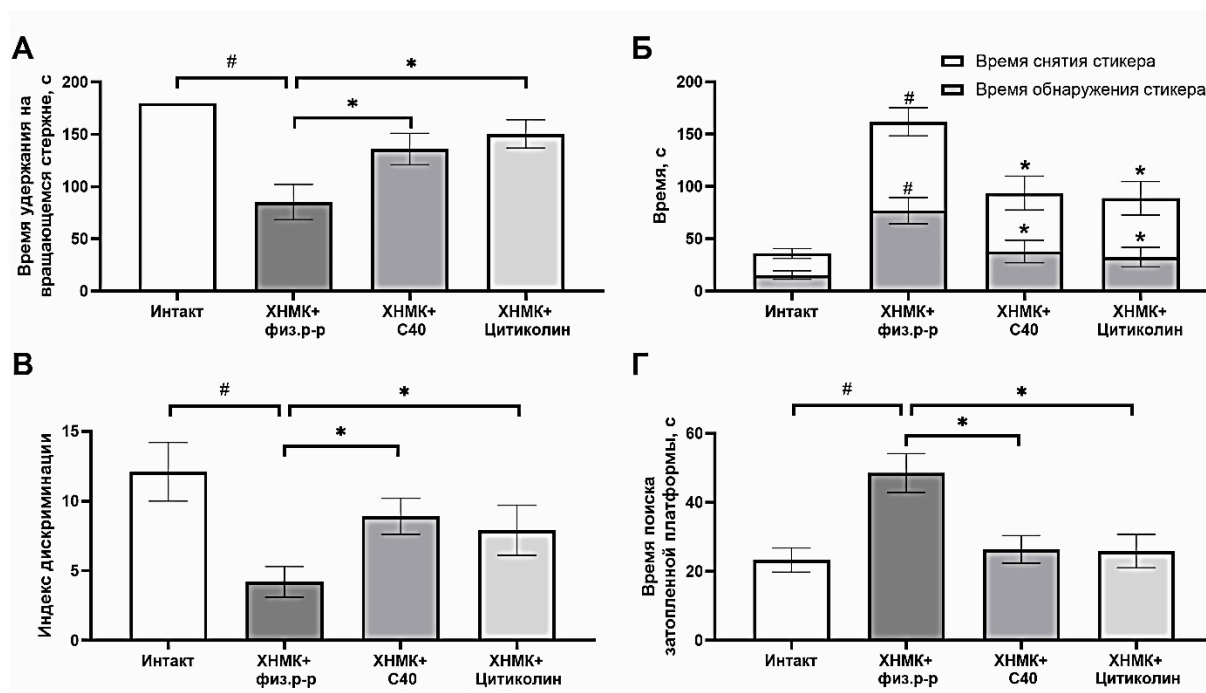
и удаления стикера с ладонной поверхности лап [8]. В водном лабиринте Морриса оценивали сохранение долговременной пространственной памяти на 5-й день после 4-дневного обучения, в ходе которого животных обучали поиску затопленной платформы по ориентирам на стенке установки, помещая животное в разные стартовые точки относительно платформы. На 5-й день платформу убирали и регистрировали время поиска места ее локализации в ходе проведения единственной тестовой сессии [9].

Когнитивные нарушения также оценивали в тесте распознавание нового объекта (РНО), который основан на естественной потребности животных исследовать новые объекты (способности выявлять и сопоставлять с информацией, хранящейся в кратковременной памяти) и был выполнен в 2 этапа: ознакомление с двумя одинаковыми объектами (А1 и А2) – 3 мин; предъявление нового объекта Б1 и копии старого (А3) через 60 мин после ознакомления – 3 мин в домашней клетке (545 × 395 × 200 мм).

По результатам теста рассчитывали индекс дискриминации (ИД) – время, затраченное на изучение нового объекта минус время, затраченное на изучение старого объекта во второй посадке ($ИД = tB1 - tA3$) [8]. Данные обрабатывали в программе Prism 6 (GraphPad Software Inc., США) с использованием критериев: Краскела – Уоллиса и Данна.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Значительно повлияло ХНМК на координацию движений подопытных животных в тесте ротарод: среднее время удержания на вращающемся стержне в группе с патологией без лечения было на 53 % ниже, чем у интактной (рис. А). В опытных группах, животным которых вводили исследуемое соединение и препарат сравнения, время удержания на вращающемся стержне было значимо выше.



#Различия достоверны по сравнению с группой «Интакт», *различия достоверны по сравнению с группой «ХНМК + физраствор» ($p < 0,05$; критерий Данна).

Рис. Влияние соединения С-40 и цитиколина на выраженность неврологических нарушений у животных с хронической недостаточностью мозгового кровотока: время удержания на вращающемся стержне в тесте ротарод (А), время обнаружения и снятия стикера в адгезивном тесте (Б), индекс дискриминации в тесте распознавания нового объекта (В) и время поиска затопленной платформы в водном лабиринте Морриса (Г)

У животных с ХНМК сенсорно-моторная функция передних конечностей была значительно нарушена. В адгезивном тесте животные контрольной группы в несколько раз дольше не обращали внимание и не устранили инородный объект с ладонной по-

верхности передних лап, чем интактные (рис. Б). Крысы с ХНМК и те, которым вводили исследуемое соединение С-40 и референтный препарат цитиколин, значимо быстрее обнаруживали и удаляли инородный предмет.

В тесте РНО было регистрировалось значительное снижение индекса дискриминации (на 66 %) в группе «ХНМК + физраствор» по сравнению с интактной группой. В группах, которым проводилось лечение соединением С-40, отмечен выраженный эффект, сопоставимый с препаратом сравнения цитиколином, выразившийся в статистически достоверном увеличении индекса дискриминации (рис. В).

Оценка воспроизведения памятного следа в водном лабиринте Морриса показала, что животные с ХНМК, которым вводили физиологический раствор, значимо дольше искали затопленную платформу по сравнению с группой интактных крыс (рис. Г). В опытных группах животных, получавших соединение С-40 и цитиколин, время поиска платформы статистически достоверно сократилось на 47 и 46 % соответственно по сравнению с животными, получавшими физиологический раствор. Таким образом, было отмечено улучшение когнитивных функций (кратковременная и долговременная память) у подопытных животных на фоне курсового введения нового конъюгата гидроксибензойной кислоты с глицином.

Различные виды хронической цереброваскулярной недостаточности являются значительной медико-социальной проблемой. Прогрессирующая хроническая ишемия мозга приводит к возникновению симптомов, снижающих качество жизни (головные боли, утомляемость) и развитию неврологических расстройств (нарушения памяти и сенсорно-моторных функций). ХНМК при отсутствии лечения способна быть самостоятельной причиной неврологических нарушений, а также может повышать риск возникновения острых сосудистых патологий головного мозга [2].

Развитие ХНМК вызывает дисбаланс в работе нейротрансмиттерных систем, воспаление, микроциркуляторные нарушения, оксидативный стресс и многие другие процессы. Целесообразна разработка средств с мультитаргетной активностью, направленных на ключевые звенья патологического процесса. Это может быть достигнуто сочетанием различных биологически активных веществ в одной молекуле, которая унаследует свойства исходных структур и может иметь лучшие фармакокинетические характеристики.

На предыдущем этапе исследования [10] изучаемый конъюгат гидроксибензойной кислоты с глицином проявил церебропротекторные свойства в условиях острого нарушения мозгового кровообращения, повышая уровень мозгового кровотока и выживаемость экспериментальных животных. В текущей работе исследуемое соединение способствовало восстановлению неврологических (сенсорно-моторных и когнитивных) функций в условиях хронической цереброваску-

лярной недостаточности, что указывает на перспективность его использования не только в остром периоде, но и в периоде восстановления потерянных функций, который может занимать продолжительное время. Таким образом исследуемое соединение (N-(4-ацетоксибензоил)глицинат калия) перспективно для дальнейшего исследования с целью разработки на его основе средства для последствий нарушений мозгового кровообращения различного генеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Производное гидроксибензойной кислоты соединение С-40 при курсовом введении обладает выраженной церебропротекторной активностью в условиях ХНМК, способствуя коррекции нарушений координации, сенсорно-моторных и когнитивных нарушений у экспериментальных животных, не уступая по эффективности препарату «Цитиколин».

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Захаров В.В., Слепцова К.Б., Мартынова О.О. Хроническая ишемия мозга: взгляд из XXI века // РМЖ. 2021. Т. 29, № 5. С. 45–49.
2. Гусев Е.И., Чуканова Е.И., Чуканова А.С. Хроническая цереброваскулярная недостаточность (факторы риска, патогенез, клиника, лечение). М.: АСТ. 2018. 149 с.
3. Клинические рекомендации по ведению больных с ишемическим инсультом и транзиторными ишемическими атаками. М., 2017. 92 с.
4. Neuroprotective and cerebrovascular effects of endogenous N-Arachidonoyl-GABA and its putative Cox-2 metabolite – GABA conjugate with Prostaglandin E2 / N.R. Mirzoyan, N.G. Khostikyan, V.S. Meliksetyan [et al.] // Research Results in Pharmacology. 2021. No. 7 (3). P. 49–61.
5. Acetoxybenzoyl-glycylglycines as potential cerebroprotective compounds / A.K. Brei', I.N. Tyurenkov, S.V. Lisina [et al.] // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2018. No. 52 (1). P. 37–41.
6. Макарова Л.М., Погорелый В.Е., Озеров А.А. Коррекция дезадаптации гипоксического и ишемического генеза фосфорилированным производным глицина // Фармация и фармакология. 2015. № 51. С. 62–63.
7. Изменение скорости мозгового кровообращения у крыс при экспериментальном моделировании стеноза общих сонных артерий / Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Д.В. Верхоляк [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2017. № 1 (61). С. 36–39.
8. Морковин Е.И., Куркин Д.В., Тюренок И.Н. Оценка психоневрологического дефицита у грызунов: основные методы // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2018. Т. 68, № 1. С. 3–15.
9. Vorhees C.V., Williams M.T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory // Nat Protoc. 2006. No. 1 (2). P. 848–858.

10. Церебропротекторное действие калиевой соли N-(4-ацетоксибензоил) глицина у крыс / Е.В. Волотова, Д.В. Верхоляк, Д.В. Куркин [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2017. Т. 80, № 6. С. 8–12.

REFERENCES

1. Zakharov V.V., Sleptsova K.B., Martynova O.O. Chronic cerebral ischemia: a view from the XXI century. *RMJ*. 2021;5:45–49. (In Russ.).

2. Gusev E.I., Chukanova E.I., Chukanova A.S. Chronic cerebrovascular insufficiency (risk factors, pathogenesis, clinic, treatment). Moscow; AST, 2018. 149 p. (In Russ.).

3. Clinical guidelines for the management of patients with ischemic stroke and transient ischemic attacks. Moscow, 2017. 92 p. (In Russ.).

4. Mirzoyan N.R., Khostikyan N.G., Meliksetyan V.S. et al. Neuroprotective and cerebrovascular effects of endogenous N-Arachidonoyl-GABA and its putative Cox-2 metabolite – GABA conjugate with Prostaglandin E2. *Research Results in Pharmacology*. 2021;7(3):49–61.

5. Brel' A.K., Tyurenkov I.N., Lisina S.V. et al. Acetoxybenzoylglycylglycines as potential cerebroprotective compounds. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018;52(1):37–41.

6. Makarova L.M., Pogorelyi V.E., Ozerov A.A. Correction of hypoxic and ischemic genesis disadaptation with phosphorylated derivatives of glycine. *Farmatsiya i farmakologiya = Pharmacy & Pharmacology*. 2015;(51):62–63. (In Russ.).

7. Kurkin D.V., Morkovin E.I., Verkholyak D.V., et al. Changes in cerebral blood flow in rats with experimental stenosis of common carotid arteries. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta = Journal of Volgograd State Medical University*. 2017;1(61):36–39. (In Russ.).

8. Morkovin E.I., Kurkin D.V., Tyurenkov I.N. The assessment of the psychoneurological impairments in rodents: Basic methods. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti im. I.P. Pavlova = Journal of Higher Nervous Activity. I.P. Pavlova*. 2018; 68(1):3–15. (In Russ.).

9. Vorhees C.V., Williams M.T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc*. 2006;1(2):848–58.

10. Volotova E.V., Verkholyak D.V., Kurkin D.V. et al. Cerebroprotective effects of N-(4-acetoxybenzoyl)glycine potassium salt in rats with permanent bilateral common artery occlusion. *Ekspierimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology*. 2017;80(6):8–12. (In Russ.).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация об авторах

Д.В. Верхоляк – старший преподаватель кафедры химии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, <http://orcid.org/0000-0002-6783-1867>

Д.А. Бакулин – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств, Научный центр инновационных лекарственных средств, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, <http://orcid.org/0000-0003-4694-3066>

И.Н. Тюренков – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и фармации, Институт непрерывного медицинского и фармацевтического образования, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, <http://orcid.org/0000-0001-7574-3923>

Статья поступила в редакцию 28.09.2022; одобрена после рецензирования 01.12.2022; принята к публикации 06.12.2022.

The authors declare no conflicts of interests.

Information about the authors

D.V. Verkholyak – Senior Lecturer of the Department of Chemistry, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, <http://orcid.org/0000-0002-6783-1867>

D.A. Bakulin – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Pharmacology of Cardiovascular Drugs, Scientific Center for Innovative Medicines, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, <http://orcid.org/0000-0003-4694-3066>

I.N. Tyurenkov – Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacology and Pharmacy, Institute of Continuing Medical and Pharmaceutical Education, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, <http://orcid.org/0000-0001-7574-3923>

The article was submitted 28.09.2022; approved after reviewing 01.12.2022; accepted for publication 06.12.2022.