

ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 3-ОКСИПИРИДИНА НА ФОНЕ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В КОМПЛЕКСЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА И ЭКЗОГЕННОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИМИИ

ИНЧИНА В.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой фармакологии МГУ им. Н.П. Огарева,
г. Саранск, Россия, vinchina@mail.ru; БУКИНА С.Ю., аспирант bukinasw@mail.ru;

КОРШУНОВА А.Б., аспирант akorshunova@nm.ru

АННОТАЦИЯ

Изучены нейропротективные свойства мексидола и 3-оксипиридинацетилцистеината на модели экспериментально вызванного ишемического инсульта у крыс. Установлено, что терапевтическое применение производных 3-оксипиридина в дозах 5 и 50 мг/кг существенным образом способствует увеличению выживаемости экспериментальных животных при перевязке левой общей сонной артерии. Защитное действие изучали путем сравнения неврологических и биохимических изменений при ишемии и на фоне введения производных 3-оксипиридина. Показан выраженный нейропротекторный эффект 3-оксипиридинацетилцистеината на избранной модели ишемии головного мозга.

Ключевые слова: мексидол, 3-оксипиридинацетилцистеинат, ишемия мозга, неврологические изменения.

ВВЕДЕНИЕ

Острые нарушения мозгового кровообращения являются актуальной медицинской и социальной проблемой, занимая во всем мире второе-третье место в общей структуре смертности и являясь ведущей причиной инвалидизации взрослого населения [4]. Ежегодно в мире переносят инсульт более 6 млн. человек. В России регистрируется более 450 тыс. случаев этого заболевания в год, примерно 35% больных умирают в остром периоде. Вследствие общего старения населения ожидается увеличение числа пациентов с инсультом [13].

Терапия инсульта направлена на восстановление проходимости артерии (тканевой активатор), предупреждение тромбообразования (фибринолитики, антикоагулянты, антиагреганты) и гибели нейронов. Для предотвращения гибели нейронов в области «ишемической полутени» назначают нейропротективные средства, использование которых особенно важно в первые часы инсульта – период «терапевтического окна». Применяют как один нейропротективный препарат, так и их комбинации – церебролизин, холина альфосцерат, карнитина хлорид, эмоксипин-глицин и др. Церебропротективное действие свойственно и некоторым вазоактивным препаратам (винпоцетин, ницерголин, циннаризин), которые назначают с целью усиления кровоснабжения ишемизированной ткани. Однако при этом нельзя исключать феномена «обкрадывания», проявляющегося уменьшением кровотока в зоне ишемии за счет усиления его в здоровых тканях [3, 7].

Антиоксиданты считаются перспективными средствами терапии при острых травмах ЦНС. Это утверждение основывается на мнении, что свободные радикалы как результат повреждающего воздействия чрезмерно перегружают системы эндогенных антиоксидантов, к каковым относятся дисмутаза су-

пероксида водорода, каталаза, глутатион, аскорбиновая кислота. Экспериментальные данные свидетельствуют о важной роли свободных радикалов в развитии тканевого поражения. Их действие реализуется посредством разнообразных механизмов – перекисного окисления липидов клеточных мембран, микрососудистого поражения, образования отека и др. [8].

Особое место среди антиоксидантов занимает отечественный препарат мексидол, обладающий выраженными антиоксидантными и мембранопротективными свойствами. По химической структуре он представляет 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат и потому имеет сходство с пиридоксином.

Мексидол относится к группе доноров протона. Основным механизмом антиоксидантного действия веществ этой группы является взаимодействие с образующимися в ходе ПОЛ перокси- и алкокси-радикалами [1] за счет легкоподвижного атома водорода, связанного с азотом в составе ароматического гетероцикла [6]. Препарат непосредственно модулирует активность мембраносвязанных ферментов супероксиддисмутазы и каталазы [5]. Мексидол является антигипоксантом прямого энергизующего действия, эффекты которого обусловлены высвобождением во внутриклеточное пространство сукцината, окисляющегося затем в дыхательной цепи, направленного на восстановление в условиях острой кислородной недостаточности нарушенного процесса окислительного фосфорилирования [2]. Мексидол ингибирует агрегацию тромбоцитов. Препарат обладает гиполипидемическим действием: уменьшает уровень общего холестерина, ЛПНП, снижает соотношение холестерин/фосфолипиды [12]. Препарат предупреждает и устраняет негативное влияние на организм таких факторов, как стресс, шок, лишение сна, гипоксия, ишемия, травмы, в том числе и головного мозга; болевой синдром, острые интоксикации – алкоголем, наркотиками, психотропными препаратами, физические и умственные перегрузки. Эффекты мексидола определяются его мембраностабилизирующими, антиоксидантными свойствами, модулирующим влиянием на рецепторы, ионные каналы, влиянием на энергетический обмен. Мексидол оказывает противоишемическое, антистрессорное, ноотропное, кардиопротективное, иммуномодулирующее действие [10].

3-оксипиридинацетилцистеинат (ЗОПЦ) – водорастворимый антиоксидант – структурный аналог соединений группы витамина В₆. Эта химическая субстанция синтезирована в Институте Биохимической Физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва. В настоящее время находится на этапе экспериментального исследования. Как и все 3-оксипиридины обладает антирадикальной и антиокислительной активностью благодаря наличию гидроксила в пиридиновом ядре. Кроме того, в своем составе содержит

цистеин, который сам является низкомолекулярным (тиоловым) антиоксидантом. ЗОПЦ уменьшает проявления цитолитического синдрома, улучшает белково-синтетическую функцию печени на фоне экспериментального сахарного диабета.

Целью нашего исследования явился анализ терапевтического действия мексидола и ЗОПЦ на модели ишемического инсульта в комплексе экспериментального сахарного диабета и экзогенной гиперхолестеринемии в опытах на крысах с оценкой спектра их фармакологических эффектов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились на 100 нелинейных половозрелых белых крысах обоего пола, массой тела 180-220 г, содержащихся в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище. После предварительной 24-часовой депривации пищи (при сохраненном доступе к воде) у крыс моделировали сахарный диабет путем однократного внутрибрюшинного введения аллоксана [9] в дозе 30 мг/кг. Моделирование диабета происходило в течение 2-х недель. Затем животным в течение 14 дней один раз в день перорально вводили масляную суспензию холестерина из расчета 40 мг на 1 кг массы тела животного, предварительно растворив в 0,5 мл растительного масла. С целью усиления пероксидного стресса к эмульсии добавляли витамин Д в дозе 12 500 ЕД на 1 кг массы. Ишемию головного мозга у животных вызывали посредством перевязки левой общей сонной артерии, наркотизировали этиаминал натрием (40 мг/кг внутримышечно). Через 24 ч после операции у крыс регистрировали неврологический дефицит, координацию движений.

Подопытные животные были разделены нами на 6 групп по 7 животных в каждой. В 1-й группе крысы на протяжении эксперимента находились на рационе питания вивария и составили интактную группу. У 2-й (контрольной) группы животных воспроизводилась ишемия мозга, им вводили физиологический раствор в дозе 50 мг/кг внутримышечно через 30 мин после операции, затем ежедневно однократно в течение 10 дней. В остальных опытных группах на фоне экспериментального сахарного диабета, экзогенной гиперхолестеринемии и ишемического нарушения мозгового кровообращения проводилась коррекция повреждений с использованием препаратов антиоксидантного типа действия. В 3-й и 4-й группах изучалось влияние мексидола в дозе 5 мг/кг и 50 мг/кг. В 5-й и 6-й группах в качестве корректора использовали ЗОПЦ в дозе 5 мг/кг и 50 мг/кг.

Динамику развития нарушений, вызванных ишемией мозга в комплексе экспериментального сахарного диабета и экзогенной гиперхолестеринемии, и влияния мексидола и ЗОПЦ на поведение крыс наблюдали в течение 12 суток с регистрацией поведения и состояния. Неврологический статус анализировали путем определения неврологического дефекта по шестибальной шкале на 3-и сутки ишемии [11], регистрировали скорость восстановления поверхностной чувствительности, определяли силу мышц. У всех экспериментальных крыс до проведения эксперимента оценивали ориентировочно-исследовательское поведение в тесте «открытое поле» по стандартной методике. В ходе 5-минутного теста в полуавтоматическом режиме (на основе визуального наблюдения) регистриро-

вали следующие показатели: число пересечений сторон квадратов камеры (в центре арены и на ее периферии), норковые реакции, вставания на задние лапы, число эпизодов груминга (чистки шерсти). Отдельно подсчитывали число фекальных болюсов за время теста (уровень дефекации). После 5 мин исследования животное возвращали в клетку. Тестирование повторяли в одно и то же время на протяжении всего эксперимента. Силу мышц поврежденной конечности определяли путем подвешивания гирек массой 2, 4, 6, 8 и 10 граммов, к правой задней нижней конечности. Гирьки подвешивали на 3, 5, 7 и 10-е сутки эксперимента. Результат считался положительным, если животное подтягивало нижнюю конечность с подвешенной гирькой. Исследовали влияние препаратов на перекисное окисление липидов.

Полученные результаты обработали методом вариационной статистики медико-биологического профиля. Обработка полученных данных включала расчеты средних арифметических значений (M), ошибок средних арифметических ($\pm m$). Статистическую значимость различий оценивали по t -критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При моделировании ишемии по предложенной методике у крыс отмечались птоз на стороне повреждения, гемипарез, гиподинамия, нарушения болевой чувствительности, экстрапирамидные расстройства (тремор), атаксия, изменение поведения (угнетение или парадоксальность защитных и оборонительных реакций). В тяжелых случаях отмечалась адинамия, атония, полное угнетение рефлексов и чувствительности. Летальность среди крыс с аллоксановым диабетом составила 15%. В контрольной группе летальность составила 20%. В остальных группах гибели животных не произошло.

Свойственной чертой динамики изменения ориентировочно-исследовательской активности интактных животных с течением времени является постепенное уменьшение количества посещенных квадратов и норковых движений и дальнейшая стабилизация этих параметров, начиная с 5-го дня опыта. Животные с ишемическим повреждением головного мозга на фоне экспериментального сахарного диабета и экзогенной гиперхолестеринемии в раннем послеоперационном периоде были малоподвижными, что выражалось в резком уменьшении регистрируемых показателей ориентировочно-исследовательской и двигательной активности в тесте «открытое поле»: количество посещенных квадратов (уменьшение на $66 \pm 7,5\%$, $p < 0,001$) (рис.1), норковых движений (уменьшение на $52 \pm 3,4\%$) (рис.2). Последующая динамика восстановления этих показателей у животных, получавших нейропротекторы, имеет различный характер.

Характерная особенность поведенческих изменений в постинсультный период у контрольной инсультной группы заключалась в нарастании ориентировочно-исследовательской и общедвигательной активности, начиная с 7-8-го дня моделирования инсульта, восстановление происходило к 12-му дню.

У животных, получавших мексидол и ЗОПЦ в дозах 50 мг/кг, наблюдается гиперактивность. Она достигает максимума уже на 5-й постинсультный день, а затем восстанавливается до нормальных значений к 10-му дню опыта (рис.1).

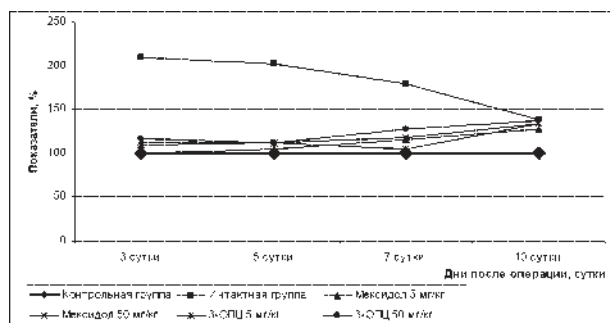


Рис. 1. Влияние антиоксидантов на ориентировочную деятельность (перемещение) белых крыс при экспериментальной ишемии головного мозга.

Количество норковых движений восстанавливается к 7-дню (рис.2).

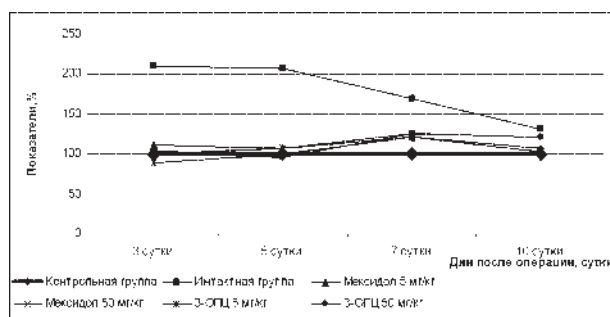


Рис. 2. Влияние мексидола, 3-ОПЦ на норковый рефлекс белых крыс на фоне ишемии головного мозга в эксперименте.

У групп, получавших мексидол и ЗОПЦ в дозах 5 мг/кг, ориентировочно-исследовательская и общедвигательная активность была значительно ниже, чем у описанных выше групп и не восстанавливалась вплоть до 7-го дня после моделирования ишемического инсульта ($p_i < 0,001$).

При ишемическом повреждении головного мозга на фоне экспериментального аллоксанового диабета и экзогенной гиперхолестеринемии в контрольной группе животные только на 5-е сутки смогли поднять 2 грамма. При применении мексидола и ЗОПЦ в дозах 5 мг/кг к 3-м суткам сила мышц у животных составила $2,4 \pm 0,2$ грамма.

Сравнивая влияние антиоксидантов на силу мышц поврежденной конечности белых крыс при экспериментальной ишемии головного мозга на фоне аллоксанового диабета и экзогенной гиперхолестеринемии к 5-м суткам, установили, что в контрольной группе животные поднимали $2,1 \pm 0,1$ грамма. При коррекции мексидолом и ЗОПЦ в дозах 5 мг/кг животные поднимали $4,4 \pm 0,2$ грамма, что выше контроля на 109%. Введение крысам мексидола и ЗОПЦ в дозах 50 мг/кг увеличивало силу мышц до $4,1 \pm 0,1$ грамма, что выше контроля на 95% ($p_k < 0,001$) (рис. 3).

Анализируя препараты мексидол и ЗОПЦ в дозах 50 мг/кг, следует отметить, что наиболее эффективно к 5-м суткам восстанавливает силу мышц поврежденной конечности препарат ЗОПЦ в дозе 50 мг/кг.

Рассматривая значения силы мышц к 10-му дню, выяснили, что при использовании мексидола в дозе 5 и 50 мг/кг у крыс отмечалось достоверное увеличение данного показателя на 36 и 69%, при применении ЗОПЦ в дозе 5 и 50 мг/кг увеличение на 69 и 85% соответственно.

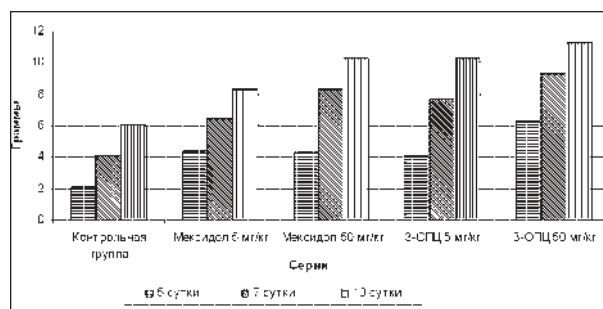


Рис. 3. Влияние антиоксидантов на силу мышц поврежденной конечности белых крыс на фоне ишемии головного мозга в эксперименте (граммы).

При исследовании МДА в плазме крови было выяснено, что на фоне применения физиологического раствора отмечалось достоверное увеличение данного показателя по сравнению с интактной группой на 160%; в третьей группе снижение на 84%; в группе крыс с применением мексидола 50 мг/кг снижение на 75%; в 5 и 6 группах – на 83% и 64% соответственно.

Исследуя активность каталазы плазмы, установили, что на фоне применения физиологического раствора отмечалось достоверное уменьшение на 40% по сравнению с интактной группой; в группе мексидол 5 мг/кг – достоверное уменьшение на 48%, с 4 группой достоверное уменьшение на 76%, с 5 группой достоверное уменьшение на 55%, с 6 группой достоверное уменьшение на 95% (см. таблицу 1).

Таблица.

Влияние мексидола и ЗОПЦ на показатели перекисного окисления липидов в сыворотке крови у крыс при экспериментальной ишемии головного мозга ($M \pm m$).

Показ. ед.м.	Серии					
	Интактная группа	Контрольная группа	Мексидол 5 мг/кг	Мексидол 50 мг/кг	ЗОПЦ 5 мг/кг	ЗОПЦ 50 мг/кг
МДА, ммоль/л	$5,5 \pm 0,03$	$8,84 \pm 0,13^{\#}$	$4,61 \pm 0,06^{\#}$	$4,12 \pm 0,04^{\#}$	$4,58 \pm 0,04^{\#}$	$3,52 \pm 0,09^{\#}$
Каталаза, мкА/100мкл	$0,42 \pm 0,006$	$0,17 \pm 0,001^{\#}$	$0,2 \pm 0,003^{\#}$	$0,32 \pm 0,004^{\#}$	$0,23 \pm 0,005^{\#}$	$0,42 \pm 0,003^{\#}$

Различия статистически значимы при $p < 0,001$ по отношению: $^{\#}$ – к интактной группе.

К концу исследований в опытных группах установили значительное снижение МДА и увеличение активности каталазы в плазме крови по сравнению с интактными животными, что отражает процесс подавления перекисного окисления липидов, активируя систему антиоксидантной защиты.

ВЫВОДЫ

Результаты проведенного исследования свидетельствует о том, что мексидол и ЗОПЦ обладают нейропротективными и ноотропными свойствами при ишемии головного мозга. Полученные данные позволяют считать мексидол и ЗОПЦ перспективными средствами для терапии нарушений мозгового кровообращения ишемического характера.

Наиболее выраженная клиническая эффективность ЗОПЦ в дозе 50 мг/кг проявляется регрессом общемозговых нарушений и значимо более быстрым восстановлением двигательных функций.

ЛИТЕРАТУРА

- Бурлакова Е.Б., Крашаков С.А., Храпова Н.Г. // Биолог. мембраны. – 1998. – Т.15, № 2. – С. 137-167.
- Галенко-Ярошевский П.А., Уваров А.В., Шейх-Заде Ю.Р. // Бюл. экспер. биол. – 1998. – № 5. – С. 575-580.
- Гусев В.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. – М. Медицина. – 2001. – 328 с.

4. Гусев Е.И. // Журн. неврол. и психиатр.: Приложение к ж. – 2003. – № 9. – С. 3-5.
 5. Девяткина Т.А., Луценко Р.В., Важничая Е.М. // Журн. экспер. и клин. фармакол. – 2003. – Т.66, № 3. – С. 56-58.
 6. Зайцев В.Г., Островский О.В., Закревский В.И. // Журн. экспер. и клин. фармакол. – 2003. – Т.66, № 4. – С. 66-70.
 7. Комиссаров И.В. Синаптические ионотропные рецепторы и познавательная деятельность. – Донецк: ДМУ. – 2001.
 8. Крайнева В.А. // Журн. неврол. и психиатр. – 2006. – № 17. – С. 71-76.

9. Мадьянов И.В., Балаболкин М.И., Григорьев А.А. // Пробл. эндокрин. – 1997. – № 1. – С. 36-37.
 10. Сариев А.К., Жердев В.П., Литвинов Л.А., и др. // Журн. экспер. и клин. фармакол. – 1999. – № 5. – С. 42-46.
 11. Суфианова Г.З., Усов Л.А., Суфианов А.А., и др. // Журн. экспер. и клин. фармакол. – 2002. – Т.65, № 1. – С. 24-26.
 12. Fox E.R. et. al. // A. Longitudinal Study. Tulane Health Res Day. – 1998. – P. 35-45.
 13. The World Health Report 2003: shaping the future. – Geneva: World Health Organization, 2003.

РОЛЬ РЕФЛЕКСОГЕННЫХ ЗОН ПОЗВОНОЧНЫХ И СОННЫХ АРТЕРИЙ В ФОРМИРОВАНИИ КАРДИОВАСКУЛЯРНОРЕСПИРАТОРНОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

КУПРИЯНОВ В.С. *д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии
Чувашского гос. университета до 2006 г., г. Чебоксары, Россия*

КУПРИЯНОВ С.В. *к.м.н., доцент, зав. кафедрой нормальной физиологии
Чувашского гос. университета, г. Чебоксары, Россия skazi@orionet.ru*

ДРАНДРОВ Г.Л. *к.м.н., доцент, главный акушер-гинеколог управления здравоохранения админ.
г. Чебоксары, г. Чебоксары, Россия*

ВОДЯНОВ Н.Г. *доцент кафедры медицинской и биологической физики
Чувашского гос. университета, г. Чебоксары, Россия*

В острых экспериментах на кошках изучено участие баро- и хеморецепторов сосудистых рефлексогенных зон позвоночных артерий и каротидного синуса в содружественной регуляции дыхания и кровообращения. Аfferентация от зон позвоночных и сонных артерий на базе собственных и сопряженных рефлексов формирует кардиоваскулярно-респираторную функциональную систему, участвующую в поддержании оптимальных газообмена и кислотно-основного состояния на уровне тканей. В результате комплексного анализа данных многолетних физиологических исследований установлена корреляционная зависимость выраженности баро- и хеморефлексов на системы дыхания и гемодинамики, возникающих с сосудистых рефлексогенных зон. Исследования, проведенные на добровольцах, позволили разработать клинически значимые корреляционные коэффициенты для экспресс-оценки сдвигов кислотно-основного состояния у больных.

Ключевые слова: сосудистая рефлексогенная зона, позвоночная артерия, кардиореспираторная система.

ВВЕДЕНИЕ

«Главной задачей физиологии кровообращения на данном этапе должно явиться изучение взаимодействия местных и центральных механизмов регуляции кровотока в различных сосудистых областях...». Это высказывание В.В. Орлова с соавт. [27] можно рассматривать как основное направление исследований, изложенных в настоящей работе. Там же читаем: «Весьма перспективна попытка связать установленные в настоящее время физические и химические местные воздействия на гладкую мышцу сосуда с одновременным их воздействием на механо- и хеморецепторные области, с которых рефлекторно могут осуществляться очень важные влияния на разные звенья кровообращения». Авторы данной статьи позволили бы себе продолжить эту мысль: «... разные звенья кровообращения и дыхания, то есть на работу кардиореспираторной системы».

В современной физиологии совместные реакции различных анатомических систем организма рассматриваются как совокупный ответ на изменения его гомеостатических параметров. Их отклонение от нормы – это материальный субстрат мотивации, формирующей функциональные системы и называемой системообразующим фактором. Самоорганизующаяся система органов работает до момента восстановления нарушенного гомеостаза. Для оценки деятельности такой системы необходимо учитывать не автономные количественные параметры, полученные при симптоматическом анализе состояния отдельных органов, а интегративную совпадающую во времени деятельность разных анатомо-физиологических систем организма, образующих данную функциональную систему. Одну из таких важных для организма функциональных систем составляют кардиореспираторные реакции [1, 2, 7, 13, 19]. Большой объем исследований в этом направлении проводится школой Н.А. Агаджаняна. Во многих других исследованиях отечественные и зарубежные авторы, изучая функциональное взаимодействие сердечно-сосудистой и дыхательной систем, фактически описывают работу кардиореспираторной системы, хотя непосредственно не используют этот термин [5, 29, 37, 38, 42, 44]. Под кардиореспираторной системой принято понимать реализующееся на общем уровне функциональное взаимодействие сердечно-сосудистой и дыхательной систем, являющееся одним из способов адаптации тканей организма к нагрузкам. Учитывая, что все клетки и органы постоянно испытывают ту или иную степень нагрузки, кардиореспираторную систему следует отнести к постоянно существующим, частным функциональным системам [7]. Изучению деятельности кардиореспираторной системы физиологами в последнее время уделяется пристальное внимание. Однако, несмотря на обширный материал по этой проблеме, остается много нерешенных вопросов. Так, например, в статье «Взаимосвязь между показателями гемодинамики и дыхания у человека» И.Г. Герасимов с соавт. [11] пишут, что объединяющий