

А.А. Литвинов, Д.В. Куркин, Е.В. Волотова

Анализ последствий ишемического поражения головного мозга животных, вызванного воздействием центробежного ускорения в краниокаудальном векторе на фоне однократного введения производных гамма-амино- и гамма-оксимасляной кислот

Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград

Резюме. Проведён анализ постишемических изменений уровня мозгового кровотока, неврологического и поведенческого статусов у экспериментальных животных, подвергшихся однократной гравитационной перегрузке в краниокаудальном направлении в течение 5 мин. Установлено, что воздействие продольных гравитационных перегрузок вызывает у животных явления тяжелого неврологического дефицита ($5,6 \pm 0,97$ балла по шкале МакГроу), снижение уровня мозгового кровотока, двигательной, ориентировочно-исследовательской активности и мнестической функции. Профилактическое введение производного гамма-аминомасляной кислоты (соединения под лабораторным шифром РГПУ-189 в дозе 30 мг/кг) и лечебное введение производных гамма-оксимасляной кислоты (магния, натрия и лития оксибутиратов в дозах 100 мг/кг) ослабляют выраженность неврологического дефицита по сравнению с контрольной группой и животными, получавшими аминалон. При оценке уровня линейного мозгового кровотока, регистрируемого в проекции средней мозговой артерии, установлено, что у крыс через 1,5 ч после церебральной ишемии и введения им соединения РГПУ-189, магния и лития оксибутиратов достоверно предотвращалось патологическое снижение уровня мозгового кровотока, чего не наблюдалось в группе негативного контроля. Однако введение животным оксибутирата лития, оксибутирата натрия и аминалона приводило к достоверному по отношению к интактным животным снижению церебрального кровотока. По сумме оказываемых эффектов (влияние на неврологическую картину и уровень мозгового кровотока) наиболее выраженным церебропротективным действием из исследуемых соединений в условиях гравитационной перегрузки в кранио-каудальном направлении обладают соединения под лабораторным шифром РГПУ-189 в дозе 30 мг/кг и магния оксибутират в дозе 100 мг/кг.

Ключевые слова: гравитационная ишемия, церебропротекция, гамма-аминомасляная кислота, гамма-оксимасляная кислота, фенибут, неврологический дефицит, поведенческие нарушения, крысы.

Введение. Известно, что продольные гравитационные перегрузки вызывают нарушения кровоснабжения головного мозга, тяжесть и характер которых зависит от величины и продолжительности радиальных ускорений. При краниокаудальном векторе ускорений происходит перемещение крови в каудальном направлении и возникает ишемия в результате падения артериального давления во всех мозговых сосудах. Так, по данным М.Д. Гаевого и соавт. [1], давление в сонных артериях снижается до нулевого уровня при ускорении уже в 4 g в краниокаудальном векторе у наркотизированных крыс. Таким образом, метод моделирования ишемии головного мозга путём гравитационных перегрузок имеет ряд преимуществ: во-первых, не требует проведения наркотизации животных и оперативного вмешательства, во-вторых, максимально приближен к клинической картине ишемического поражения головного мозга.

Цель исследования. Изучение влияния однократного введения новых производных гамма-аминомасляной (ГАМК) и гамма-оксимасляной (ГОМК)

кислот при остром ишемическом поражении головного мозга линейных среднеактивных крыс, вызванным 5-минутными продольными гравитационными ускорениями с перегрузкой в 9 g, в краниокаудальном векторе.

Материалы и методы. Исследование проведено на половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 180–200 г (питомник «Рапполово»), со среднеактивным типом поведения в тестах «открытое поле» (ОП) и «экстраполяционного избавления» (ЭИ). Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики (GLP) и Приказу МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». При проведении экспериментов учитывались требования комиссии по проблеме этики отношения к животным Российского национального комитета по биоэтике при Российской академии наук; и этические нормы, признанные мировым сообществом, и изложенные в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных», опубликованные в 1985

г. Советом международных медицинских организаций. Экспериментальные группы формировались по принципу рандомизации и представлены в таблице 1. Всего было сформировано 8 групп по 10 животных в каждой.

Глобальная преходящая ишемия головного мозга моделировалось на бодрствующих животных, которых помещали в плексигласовые пеналы, размещённые по краям горизонтальной штанги центрифуги в строго краниокаудальном направлении, величина перегрузки при этом составляла 9 g в течение 5 мин при разгоне центрифуги до постоянной скорости через 5 с. Непосредственно после прекращения гравитации у животных определялся неврологический дефицит по бальной шкале МакГроу (McGrow) в модификации И.В. Ганнушкиной [1]. Через час после гравитационного воздействия регистрировалось поведение животных по стандартным психофармакологическим тестам «ОП» и «ЭИ» [5]. На завершающем этапе эксперимента у наркотизированных хлоралгидратом (400 мг/кг) животных регистрировался уровень локального мозгового кровотока в проекции средней мозговой артерии методом ультразвуковой флоуметрии («Минимакс доплер», Санкт-Петербург).

Обработку данных проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel и BioStat 2008 5.2.5.0. Результаты представлены в виде средней (M) и стандартной ошибки средней ($\pm m$), достоверность показателей в сравниваемых группах оценивали с помощью рангового однофакторного критерия Крускала – Уоллиса и критерия Данна.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что 5-минутное вращение в краниокаудальном векторе вызывало гибель 30% животных 2-й группы (ишемия с физиологическим раствором) и 20% – животных, получавшей аминалон. В остальных группах летальных исходов не наблюдалось (табл. 2).

У выживших контрольных животных (2-я группа) присутствовали признаки стойкого неврологического дефицита $5,6 \pm 0,97$ балла по шкале McGrow (рис. 1).

Достоверно более низкие значения неврологической симптоматики было зафиксировано в группах животных, получавших РГПУ-189 ($1,9 \pm 0,12$ балла), магния оксидутират ($2,8 \pm 0,13$ балла), натрия оксидутират ($2,8 \pm 0,2$ балла), лития оксидутират ($2,9 \pm 0,18$ балла), а также фенибут ($3,4 \pm 0,1$ балла), что свидетельствует об их потенциальной церебропротективной активности. Аминалон снижал выраженность неврологического дефицита ($4,75 \pm 0,88$ балла), но недостоверно.

Изменение поведенческого статуса животных под воздействием гравитационных перегрузок является одним из индикаторов наличия церебральных нарушений. Так, показатели двигательной и ориентировочно-исследовательской активности у животных группы негативного контроля (ишемия с физиологическим раствором) в тесте «ОП» были ниже, более чем в 5 и 8 раз, соответственно, по сравнению с группой интактных животных (рис. 2).

У животных, получавших до гравитации соединение РГПУ-189 и магния оксидутират, в постгравитационном периоде показатели двигательной активности были значительно выше ($12,8 \pm 1,4$ и $12,0 \pm 0,5$ пересечений

Таблица 1

Формирование групп животных, участвующих в исследовании

Группа	Вводимый препарат	Группа	Вводимый препарат
1	Позитивный контроль (интактные животные)	5	Ишемия + натрия оксидутират 100 мг/кг
2	Негативный контроль (ишемия с физ. р-ром)	6	Ишемия + лития оксидутират 200 мг/кг
3	Ишемия + РГПУ-189 30 мг/кг	7	Ишемия + аминалон 100 мг/кг
4	Ишемия + агния оксидутират 100 мг/кг	8	Ишемия + фенибут 25 мг/кг

Примечание: РГПУ-189 – лабораторный шифр исследуемого производного ГАМК. Фенибут и физиологический раствор вводились однократно за 30 мин до моделирования патологии. Все исследуемые производные гамма-оксимасляной кислоты вводились спустя 5 мин после моделирования патологии.

Таблица 2

Влияние исследуемых соединений на выживаемость животных после воздействия продольных 9-кратных перегрузок в краниокаудальном векторе в течение 5 мин

Группа и вводимый препарат	Выживаемость, %	Группа и вводимый препарат	Выживаемость, %
Позитивный контроль (интактные животные)	100	Натрия оксидутират	100
Негативный контроль (ишемия с физ. р-ром)	70	Лития оксидутират	100
РГПУ-189	100	Аминалон	80
Магния оксидутират	100	Фенибут	100

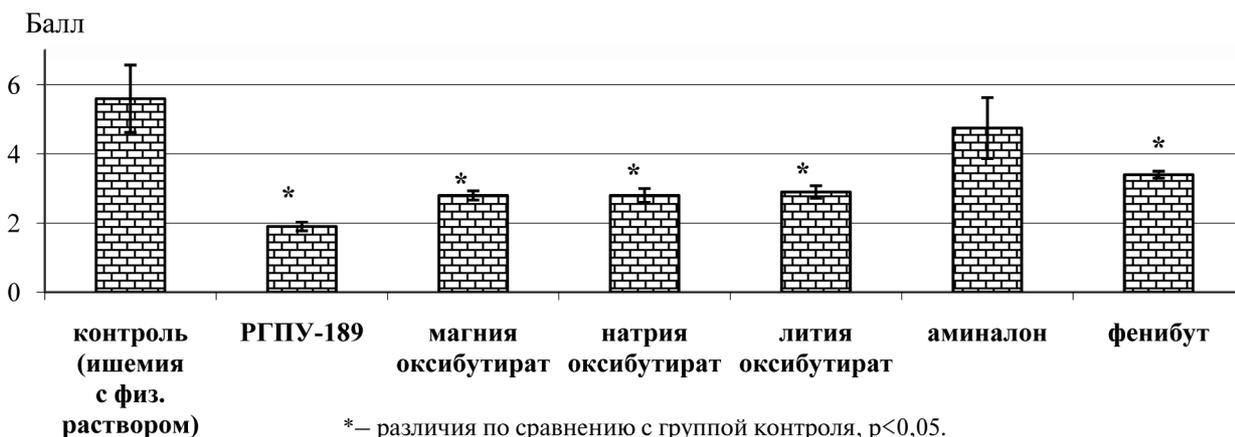
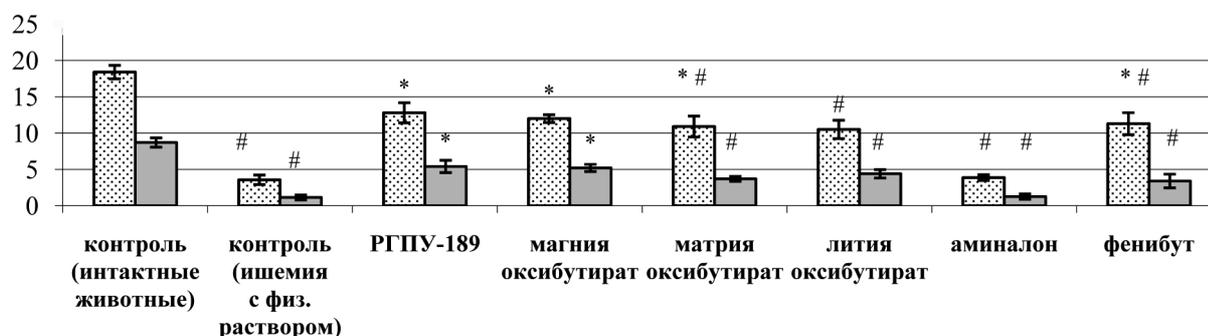


Рис. 1. Влияние исследуемых соединений на показатели неврологического дефицита после гравитационной ишемии (шкала McGrow)



- двигательная активность (количество пересеченных секторов ОП)
 - ориентировочно-исследовательская активность (суммарное количество вставаний крысы на задние лапки и заглядываний в отверстия ОП)
- * – различия по сравнению с группой негативного контроля (ишемия с физиологическим раствором);
 # – по сравнению с группой позитивного контроля (интактные животные), p<0,05.

Рис. 2. Влияние исследуемых соединений на двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность животных после гравитационных перегрузок (тест «ОП»)

сектора соответственно), чем у группы животных негативного контроля ($3,57 \pm 0,65$ пересечений сектора), приближаясь к аналогичным показателям у группы позитивного контроля. Введение соединений натрия оксибутирата и фенибута приводило к достоверному повышению двигательной активности ($10,9 \pm 1,4$ и $11,3 \pm 1,5$ пересечений сектора соответственно) относительно группы негативного контроля, достоверно отличаясь при этом от показателей интактной группы ($18,4 \pm 0,92$ пересечений сектора). Введение лития оксибутирата и аминалона не приводило к достоверному изменению спонтанной двигательной активности.

В группах животных, получавших РГПУ-189 и магния оксибутират, выявлены достоверные ($p < 0,05$) отличия показателей ориентировочно-

исследовательской активности от показателей группы негативного контроля. Остальные соединения не оказывали достоверно выраженного влияния на данный вид активности животных.

По данным теста «ЭИ» обнаружено достоверное ($p < 0,05$) позитивное влияние исследуемых соединений на мнестическую активность животных после гравитационных перегрузок (рис. 3).

Так, время затраченное на решение задачи экстраполяции в тесте «ЭИ» в группе, получавшей РГПУ-189, магния, натрия и лития оксибутирата было достоверно меньше (более чем в 2 раза), по сравнению с аналогичным в группе негативного контроля, практически достигая значений группы позитивного контроля (интактные животные).

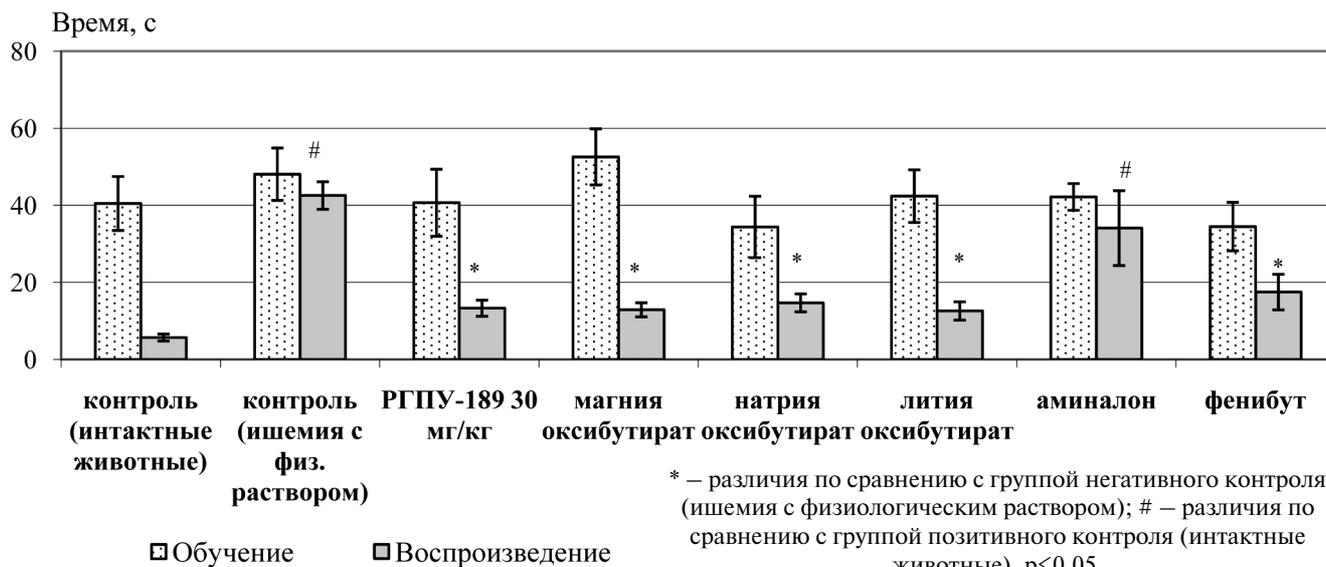


Рис. 3. Влияние исследуемых соединений на скорость решения животными экстраполяционной задачи (тест «ЭИ»)

Особо важное значение имеет оценка количественных характеристик скорости локального мозгового кровотока, потому как этапность патобиохимических изменений при ишемии напрямую зависит от уровня и продолжительности падения церебрального кровотока в области локации [2, 5]. При оценке уровня линейного мозгового кровотока, регистрируемого в проекции средней мозговой артерии, установлено, что у крыс через 1,5 ч после церебральной ишемии и введения им РГПУ-189, магния и лития оксибутиратов, а также фенибута достоверно предотвращалось патологическое снижение уровня мозгового кровотока, чего не наблюдалось в группе негативного контроля (табл. 3). Однако введение животным оксибутирата лития, оксибутирата натрия и аминалона приводило к достоверному по отношению к интактным животным (позитивный контроль) снижению церебрального кровотока.

Таким образом, каждое из исследуемых соединений обладает способностью в определенной степени препятствовать снижению уровня мозгового кровотока под влиянием ишемии. В целом, церебропротективное действие РГПУ-189, магния, натрия и лития оксибутиратов сопоставимо с эффектами фенибута [4]. Введение данных веществ предотвращает гибель животных, уменьшает неврологический когнитивный и мнестический дефицит. Разностороннее влияние солей гамма-оксимасляной кислоты на поведенческий статус животных, по-видимому, объясняется природой катиона металла, а также тем фактом, что их применение в разной степени препятствует выраженности развития постишемического периода реперфузии и феномена «no-reflow» (феномен невосстановленного кровотока) и, как следствие, степени выраженности постишемических нарушений. Помимо этого, исследуемым соединениям присущи положительные нейропротекторные и ноотропные эффекты, сопоставимые с аналогичными фенибута.

Таблица 3

Влияние исследуемых соединений на интенсивность мозгового кровотока у животных после гравитационных перегрузок, у.е.

Группа и вводимый препарат	Интенсивность мозгового кровотока	Группа и вводимый препарат	Интенсивность мозгового кровотока
Позитивный контроль (интактные животные)	5,03±0,14	Натрия оксибутират	4,0±0,2#
Негативный контроль (ишемия с физ. р-ром)	2,57±0,057#	Лития оксибутират	4,17±0,12#*
РГПУ-189	4,76±0,09*	Аминалон	3,94±0,06#
Магния оксибутират	4,75±0,15*	Фенибут	4,30±0,14*

Примечание: * – различия по сравнению с группой негативного контроля (ишемия с физиологическим раствором); # – по сравнению с группой позитивного контроля (интактные животные), p<0,05.

Выводы

1. Продольные 5-минутные гравитационные перегрузки в краниокаудальном векторе вызывают у животных явления стойкого неврологического и поведенческого дефицита, возможно, обусловленные, в основном, недостаточностью адаптационных резервов сердечно-сосудистой системы.

2. Однократное введение соединений РГПУ-189, оксибутиратов магния, натрия и лития вызывает снижение выраженности негативного воздействия продольных 9-кратных гравитационных перегрузок на неврологический и поведенческий статус животных, сопоставимый с таковым при введении фенибута.

3. Наибольшая нейропротекторная активность при моделировании экспериментальной ишемии головного мозга выявлена у соединений РГПУ-189 в дозе 30 мг/кг и магния оксибутират в дозе 100 мг/кг.

Литература

1. Гаевый, М.Д. Ишемия головного мозга, вызванная гравитационной перегрузкой / М.Д. Гаевый [и др.] // Экспер. и клин. фармакология. – 2000. – Т. 63, № 3. – С. 63–64.
2. Тюренков, И.Н. Влияние фенотропила на параметры локального мозгового кровотока в норме и в условиях переходящей ишемии головного мозга у крыс / И.Н. Тюренков, М.Н. Багметов, В.В. Епишина // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2007. – Т. 6, № 1. – С. 173–174.
3. Тюренков, И.Н. Сравнительная характеристика нейропротекторного действия фенотропила и пирацетама в условиях ишемии головного мозга в лабораторных животных / И.Н. Тюренков, М.Н. Багметов, В.В. Епишина // Экспер. и клин. фармакология. – 2007. – Т. 70, № 2. – С. 24–29.
4. Тюренков, И.Н. Церебропротективное действие производных гамма-аминомасляной кислоты при острой ишемии головного мозга крыс / И.Н. Тюренков [и др.] // Вестн. ВолгГМУ – 2011. – № 2. – С. 72 – 75.
5. Самоотруева, М.А. Экспериментальные модели поведения / М.А. Самоотруева, Д.Л. Теплый, И.Н. Тюренков // Естественные науки. – 2009. – № 2. – Т. 27. – С. 140–152.

A.A. Litvinov, D.V. Kurkin, E.V. Volotova

Analysis of cerebral ischemic damage results, caused by caudo-cranial gravitational forces, in case of new derivatives of gamma-amino- and gamma-oxybutyric acid single administration

Abstract. Analysis of postischemic cerebral blood flow, neurological and behavioral alterations, caused by 5 minutes lasting caudo-cranial gravitational forces, was carried out. It was established that exposure of longitudinal gravitational forces on rats causes serious neurological deficit ($5,6 \pm 0,97$ – McGrow score), decrease of cerebral blood flow, reducing of motor, exploratory and cognitive activity. Preventive administration of new derivative of gamma-amino-acid (RGPU-189 30 mg/kg) and therapeutic administration of derivatives of gamma-oxybutyric acid (magnesium, sodium and lithium oxybutyrates 100 mg/kg) considerably reduce neurologic deficit comparing with control group, receiving administration of aminalon. Results of cerebral blood flow measurement on middle cerebral artery skull projection show marked prevention of blood flow decrease after 1,5 hour of RGPU-189, magnesium and lithium oxybutyrates administration, also such effects was absent in case of control group study. However, administration of magnesium, sodium and lithium oxybutyrates cause marked decrease of cerebral blood flow. The most marked cerebroprotective effect, in our experiment during gravitational force exposure, was established in case of administration of RGPU-189 (30 mg/kg) and magnesium oxybutyrate (100 mg/kg).

Key words: gravitational ischemia, cerebroprotection, gamma-aminobutyric acid, gamma-oxybutyric acid, phenibut, neurologic deficit, behavioral impairments, rats.

Контактный телефон: 8 (442) 97-81-80; e-mail: solidsnake85@inbox.ru