

НЕЙРОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГИДРОХЛОРИДА β-ФЕНИЛГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ (РГПУ-135) ПРИ НЕДОСТАТОЧНОСТИ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ У КРЫС

Е. В. Волотова, Н. В. Мазина, Д. В. Куркин, И. Н. Тюренков

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей*

При недостаточности мозгового кровообращения у крыс, вызванного одномоментной необратимой билатеральной окклюзией общих сонных артерий, профилактическое введение нового производного глутаминовой кислоты (глутарон, РГПУ-135) в большей степени в дозе 26 мг/кг оказывало нейропротекторное действие, что выражалось в снижении количества летальных исходов животных и в уменьшении у них степени выраженности неврологического, когнитивного и поведенческого дефицита по сравнению с животными, получавшими физиологический раствор.

Ключевые слова: нарушение мозгового кровообращения, ишемия головного мозга, неврологический дефицит, глутаминовая кислота, кавинтон.

NEUROPROTECTIVE ACTION OF β-PHENYLGLUTAMIC ACID HYDROCHLORIDE (RGPU-135) IN RATS WITH INSUFFICIENT CEREBRAL BLOOD FLOW

E. V. Volotova, N. V. Mazina, D. V. Kurkin, I. N. Tyurenkov

A lesion of cerebral blood flow in rats caused an irreversible one-stage bilateral occlusion of the common carotid arteries; preventive administration of a new derivative of glutamic acid (glutaron, RGPU-135) at a dose of 26 mg/kg exerted neuroprotective effects, as reflected in the decrease in the number of deaths of animals and a reduction in the their degree of neurological deficiency as compared with animals treated with saline.

Key words: violation of cerebral blood flow, cerebral ischemia, neurological deficiency, glutamic acid, cavinton.

Согласно национальным рекомендациям по неврологии [3], в терапии как острых, так и хронических нарушений мозгового кровообращения целесообразно применение нейропротекторных средств, которые способны уменьшать повреждения нейронов в неблагоприятных условиях [4, 5, 7]. В настоящее время существующий арсенал лекарственных средств с нейропротекторными свойствами обладает недостаточной клинической эффективностью [6]. Поэтому создание новых нейропротекторных препаратов для оптимизации терапии нарушений мозгового кровообращения актуально и сегодня.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение нейропротективного действия субстанции гидрохлорида β-фенилглутаминовой кислоты (РГПУ-135) с анализом зависимости доза-эффект на модели нарушения мозгового кровообращения, вызванного окклюзией общих сонных артерий у крыс.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 110 половозрелых беспородных крысах-самцах 180—200 г, 3,5—4-месячного возраста. Все животные были доставлены из питомника лабораторных животных «РАППОЛОВО» РАМН. Содержание животных проводилось с учетом правил, принятых Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

В ходе исследования были сформированы следующие группы:

Первая группа — ложнооперированные (ЛО) физ. р-р; вторая группа — контроль-ишемия (физ. р-р); третья группа — ишемия + РГПУ-135 13 мг/кг; четвертая группа — ишемия + РГПУ-135 26 мг/кг; пятая группа — ишемия + РГПУ-135 52 мг/кг; шестая группа — ишемия + кавинтон 3,2 мг/кг.

Каждая группа состояла из 20 крыс, за исключением контрольной группы — (1 ложнооперированные животные), которая состояла из 10 животных. Все препараты вводились внутривенно за 30 мин до наложения лигатур на общие сонные артерии.

Для моделирования недостаточности мозгового кровообращения (НМК) использовалась модель одномоментной необратимой билатеральной окклюзии общих сонных артерий [2, 8]. Регистрация выживаемости и выраженности неврологического дефицита у животных осуществляли на 6, 12, 24, 48 и 72-й час после операции. Неврологический статус животных определялся по шкале McGrow в модификации И. В. Ганнушкиной [1]. При наличии у животных нескольких симптомов неврологического дефицита тяжесть состояния определялась как сумма соответствующих баллов. Дополнительно для оценки поведения животных, а также когнитивных функций использовались стандартные тесты: «открытое поле» (ОП), «условная реакция пассивного избегания» (УРПИ) и «тест экстраполяционного избегания» (ТЭИ), исследование животных в которых проводилось через 72 ч после моделирования НМК. Обработку данных проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel и BioStat 2008 5.2.5.0. Достоверность показателей в сравниваемых груп-

пах оценивали с помощью рангового однофакторного критерия Крускал-Уоллиса, Данна, Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Изучение влияния гидрохлорида β -фенилглутаминовой кислоты (РГПУ-135) в различных дозах на выживаемость животных при необратимой окклюзии общих сонных артерий.

Суммарные данные о динамике гибели животных после билатеральной необратимой окклюзии общих сонных артерий представлены в табл. 1.

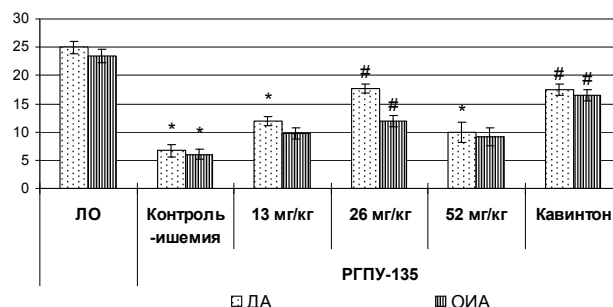
Необратимая окклюзия общих сонных артерий вызвала выраженное нарушение мозгового кровообращения, которое приводило к гибели животных. Так первые летальные исходы среди животных контрольной группы (группа 2) были отмечены уже через 6 часов после ОСА, а к концу 3-х суток выжило всего 30 % животных, тогда как в группе ЛО не было зафиксировано ни одного летального случая.

Исследуемое производное глутаминовой кислоты РГПУ-135 (в дозе 26 мг/кг) к концу 3-х суток достоверно уменьшало гибель крыс после перевязки сонных артерий по сравнению с группой негативного контроля (контроль-ишемия) на 35 %. Оказываемое им защитное действие было сопоставимо с таковым у кавинтона. Превентивное однократное введение РГПУ-135 в дозах от 13 и 52 мг/кг оказывали менее выраженное протективное действие, чем в дозе 26 мг/кг.

2. Влияние различных доз исследуемой субстанции на выраженность неврологического дефицита выживших животных после необратимой окклюзии общих сонных артерий.

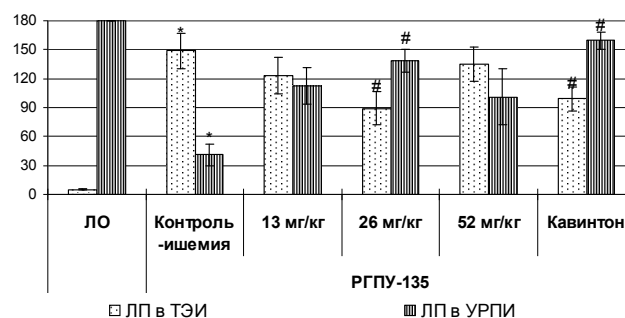
У животных группы контроль-ишемия (негативный контроль) в условиях моделируемого нарушения мозгового кровообращения мозга отмечался постепенный рост неврологического дефицита с ($5,9 \pm 0,63$) (через 6 ч) до ($7,8 \pm 0,64$) балла (через 48 ч), который сохранялся в последующем до конца третьих суток наблюдения (табл. 2). Также по результатам тестов ОП, ТЭИ, УРПИ у животных группы контроль-ишемия через 72 ч. после моделирования нарушения мозгового кровообращения отмечен выраженный

поведенческий и когнитивный дефицит по сравнению с группой ложнооперированных животных (рис. 1, 2).



ДА — двигательная активность (количество пересеченных квадратов животными в тесте ОП; ОИА — ориентировочно-исследовательская активность (количество суммированных актов стоек и заглядываний в норки); ЛО — ложнооперированные животные; *различия достоверны по критерию Данна в сравнении с ЛО ($p < 0,05$); #различия достоверны по критерию Данна в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$).

Рис. 1. Двигательная и ориентировочно-исследовательская активность животных после необратимой билатеральной окклюзии общих сонных артерий



ЛП — латентный период (с); ЛО — ложнооперированные животные; *различия достоверны по критерию Данна в сравнении с ЛО крысами ($p < 0,05$); #различия достоверны по критерию Данна в сравнении с группой контроль-ишемия ($p < 0,05$).

Рис. 2. Время (с) решения экстраполяционной задачи в ТЭИ и латентный период захода в темный отсек в УРПИ животных с необратимой билатеральной окклюзией общих сонных артерий

Таблица 1

Влияние исследуемых веществ на выживаемость животных при необратимой билатеральной окклюзии общих сонных артерий (ОСА)

Группа животных		Выживаемость животных после ОСА									
		6 ч		12 ч		24 ч		48 ч		72 ч	
		n/N	%	n/N	%	n/N	%	n/N	%	n/N	%
ЛО		10/10	100	10/10	100	10/10	100	10/10	100	10/10	100
Контроль-ишемия		20/15	75	20/14	70	20/12*	60	20/8*	40	20/6*	30
РГПУ-135	13мг/кг	20/16	80	20/15	75	20/13	65	20/11	55	20/9	45
	26 мг/кг	20/15	75	20/15	75	20/14	70	20/13 [#]	65	20/13 [#]	65
	52 мг/кг	20/16	80	20/13	65	20/11	55	20/9	45	20/8	40
Кавинтон		20/18	90	20/16	80	20/15 [#]	75	20/15 [#]	75	20/15 [#]	75

Примечание. n — количество животных в группе; N — количество выживших животных в группе; ЛО — ложнооперированные животные. *Различия достоверны по сравнению с ЛО группой ($p < 0,05$); #различия достоверны по сравнению с контрольной группой — 2 ($p < 0,05$, критерий Фишера).

На фоне однократного профилактического введения исследуемой субстанции (РГПУ-135 в дозе 26 мг/кг) выраженность неврологического дефицита у животных по сравнению с группой контроль-ишемия была наименьшей (табл. 1). К тому же однократное превентивное введение РГПУ-135 в дозе 26 мг/кг достоверно препятствовало возникновению выраженных нарушений локомоторной и ориентировочно-исследовательской активности животных, в большей степени устраняло нарушения памяти, выз-

ванные необратимой окклюзией общих сонных артерий (рис. 1, 2).

Однако уменьшение дозы РГПУ-135 до 13 мг/кг или увеличение до 52 мг/кг не приводило к повышению эффективности исследуемой субстанции, о чем свидетельствовала более выраженная неврологическая картина у животных данных групп (табл. 2), а также более низкие показатели двигательной и суммарной ориентировочно-исследовательской активности по сравнению с животными, получавшими тоже соединение в дозе 26 мг/кг (рис. 1, 2).

Таблица 2

Балл неврологического дефицита по шкале McGrow животных после необратимой окклюзии сонных артерий (ОСА) на фоне однократного профилактического введения исследуемых соединений ($M \pm m$)

Группа животных		Время после необратимой ОСА				
		6 ч	12 ч	24 ч	48 ч	72 ч
Контроль-ишемия		5,90 ± 0,63	6,90 ± 0,53	7,30 ± 0,56	7,80 ± 0,64	7,80 ± 0,79
РГПУ-135	13 мг/кг	5,20 ± 0,62	6,00 ± 0,61	6,10 ± 0,71	6,8 ± 0,7	7,20 ± 0,72
	26 мг/кг	4,80 ± 0,71	4,70 ± 0,74 [#]	5,00 ± 0,79 [#]	5,10 ± 0,84 [#]	4,90 ± 0,88 [#]
	52 мг/кг	4,80 ± 0,68	6,2 ± 0,7	6,40 ± 0,79	7,0 ± 0,8	6,80 ± 0,91
Кавинтон		4,90 ± 0,49	4,80 ± 0,67	4,80 ± 0,73 [#]	4,60 ± 0,74	4,30 ± 0,77 [#]

[#]Различия достоверны по критерию Данна в сравнении с группой контроль-ишемия ($p < 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Недостаточность мозгового кровообращения, вызванная одномоментной необратимой билатеральной окклюзией общих сонных артерий сопровождается выраженными нарушениями когнитивных функций, психоэмоционального поведения, коррелирующего со степенью неврологического дефицита и высокой смертностью животных.

2. Однократное введение производного глутаминовой кислоты — соединения РГПУ-135 в дозе 26 мг/кг за 30 минут до двусторонней окклюзии общих сонных артерий оказывало выраженное нейропротективное действие, о чем свидетельствовало снижение степени неврологического дефицита и выраженности когнитивных нарушений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ганнушкина И. В. // Журн. невропатол. и психиатр. — 1996. — № 1. — С. 14—18.
2. Методические указания по экспериментальному изучению препаратов для лечения нарушений мозгового кровообращения и мигрени: Метод. рекомендации:

Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Сост.: Р. С. Мирзоян, А. С. Саратиков, М. Б. Плотноков и др. — М., 2000. — 398 с.

3. Неврология. Национальное руководство / Под ред. Гусева Е. И., Коновалова А. Н., Скворцовой В. И., Гехт А. Б. — М.: ГЕОТАР-Медиа, 2009. — 1040 с.

4. Петров В. И., Пономарев Э. А., Маскин С. С., Стрелетов Н. Н. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2011. — № 8. — С. 13—16.

5. Путилина М. // Врач. — 2012. — № 4. — С. 69—73.

6. Путилина М. В. // Consilium medicum. — 2009. — № 2. — С. 9—15.

7. Суслина З. А., Максимова М. Ю., Федорова Т. Н. // Неврологический журнал. — 2007. — № 4. — С. 3—7.

8. Тюренок И. Н., Петрова Е. В., Оганесян Э. Т. и др. // Вестник ВолгГМУ. — 2011. — № 4. — С. 22—25.

Контактная информация

Волотова Елена Владимировна — к. м. н., ассистент кафедры фармакологии и биофармации ФУВ, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: evv.md@yandex.ru