

## ИЗУЧЕНИЕ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТОВ РАЗЛИЧНЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

**А.В. Воронков, К.А. Мирошниченко, Д.И. Поздняков, А.А. Потапова**

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский  
государственный медицинский университет»*

*Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
кафедра фармакологии с курсом клинической фармакологии*

Хроническая травматическая энцефалопатия (ХТЭ) – тяжелое нейродегенеративное заболевание, способное поражать людей всех возрастов и профессий. Целью исследования явилось изучение воздействия препаратов различных фармакологических групп на течение экспериментально вызванной ХТЭ. Материалы и методы. Модель патологии была воспроизведена посредством падения груза, массой 150 г с высоты 0,5 м, на теменную область черепной коробки крыс в течение 7 дней. Результаты. Исходя из результатов эксперимента установлено восстановление когнитивных функций и снижение концентраций маркеров нейродеградации при применении препаратов: Церебро, Пантогам, Гипоксен, Стимол, Фенибут. Выводы: проанализировав экспериментальные данные, можно предположить наличие у исследуемых препаратов церебропротекторной активности и возможности их использования при терапии хронической травматической энцефалопатии.

*Ключевые слова:* хроническая травматическая энцефалопатия, ноотропы, антигипоксанта.

DOI 10.19163/1994-9480-2020-2(74)-48-52

## STUDY OF CEREBROPROTECTIVE EFFECT OF DRUGS OF DIFFERENT GROUPS IN EXPERIMENTAL CHRONIC TRAUMATIC ENCEPHALOPATHY

**A.V. Voronkov, K.A. Miroshnichenko, D.I. Pozdnyakov, A.A. Potapova**

*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – affiliate of the FSBEI HE «The Volgograd State  
Medical University» of Public Health Ministry of the Russian Federation,  
department of pharmacology with clinical pharmacology course*

Chronic traumatic encephalopathy (CTE) is a severe neurodegenerative disease that can affect people of all ages and professions. The aim of the study was to study the effects of drugs of different pharmacological groups on the course of CTE. Materials and methods. The pathology model was reproduced by dropping a 150 g load from a height of 0.5 m onto the parietal region of the rat skull for 7 days. Results. Based on the results of the experiment, the restoration of cognitive functions and a decrease in the concentration of markers of neurodegradation was established with the use of Cerepro, Panthogam, Hypoxene, Stimol, Phenibut. Conclusions: having analyzed the experimental data, it is possible to assume the presence of cerebroprotective activity in the studied drugs and the possibility of their use in the treatment of chronic traumatic encephalopathy.

*Key words:* chronic traumatic encephalopathy, nootropics, antihypoxants.

Хроническая травматическая энцефалопатия (ХТЭ) – это комплексное прогрессирующее заболевание головного мозга, характеризующееся дегенерацией клеток центральной нервной системы, приводящей к развитию дисфункций нейронов и нейроглии, которые в свою очередь определяют клинические проявления данной патологии: когнитивные, сенсомоторные, двигательные расстройства [8]. Этиологией ХТЭ является повторяющаяся черепно-мозговая травма, различного происхождения и силы тяжести.

Также имеются литературные сведения о пагубном влиянии стресса на развитие ХТЭ, что делает данную патологию более социально значимой, чем предполагалось ранее [6]. Диагностическим признаком ХТЭ является обнаружение

повышенной концентрации биомаркеров нейродеградации: бета-амилоида (Аβ), глиального фибриллярного кислого белка (GFAP), нейронспецифичной енолазы (NSE), белка группы S100 (S100B).

В настоящее время эффективные методы профилактики и лечения ХТЭ сводятся, как правило, к двум стратегиям: использование индивидуальных средств защиты, либо применение лекарственных препаратов, относящихся к различным фармакотерапевтическим группам: ноотропы (холина альфосцерат, гопантеповая кислота), средства метаболического действия (L-цитруллин), антигипоксанта (полидигидроксифенилентиосульфат натрия) и транквилизаторы – стрессопротекторы (аминофенилмасляная кислота).

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение способности таких препаратов, как Церебро, Пантогам, Гипоксен, Стимол, Фенибут, снижать уровень когнитивного дефицита и концентрацию маркеров нейродеградации в условиях экспериментальной ХТЭ.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты были выполнены на крысах-самцах линии *Wistar* с массой 240–270 г. Число животных в одной группе составляло 10 особей. Манипуляции, производимые с крысами, были выполнены в соответствии с ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Модель ХТЭ у крыс формировали путем прямого воздействия груза массой 150 г на теменную область черепа, с высоты 50 см, в течение семи дней (один удар в сутки) [7]. Изучаемые препараты применяли перорально, спустя 30 минут после травмирования животных, также в течение семи дней. Препарат Церебро (Верофарм, РФ) вводили в дозе 100 мг/кг, Пантогам («ПИК-ФАРМА ПРО», РФ) 100 мг/кг, Гипоксен («Олифен корпорация», Россия) 25 мг/кг, Стимол (Biocodex, Франция) 25 мг/кг, Фенибут («ОлайнФарм», Латвия) 25 мг/кг [1]. Крысам группы негативного контроля (НК) вводили в эквивалентном количестве физиологический раствор натрия хлорида. По истечении семи суток после последнего введения исследуемых препаратов были оценены когнитивные функции животных в тестах «экстраполяционное избавление» (ТЭИ) и «условный рефлекс пассивного избегания» (УРПИ).

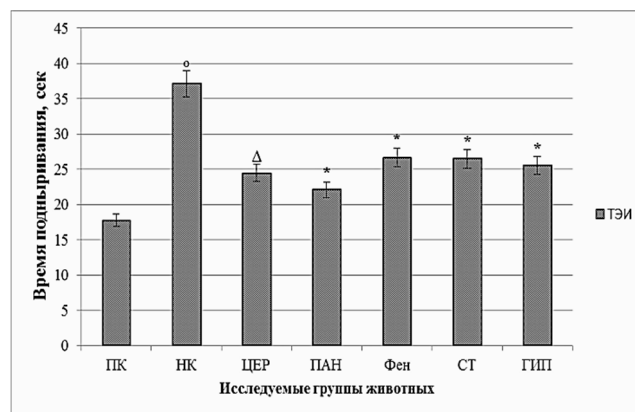
Далее было изучено изменение концентрации маркеров нейродеградации Аβ, GFAB, NSE, S100B, при помощи метода твердофазного иммуноферментного анализа, используя видоспецифичные наборы реактивов производства компании *Cloud Clone Corp.* (США). Определение концентрации Аβ выполняли в супернатанте головного мозга, а других биомаркеров – в сыворотке крови. Проведение анализа соответствовало прилагаемой производителем инструкции.

Оценка данных, полученных в ходе исследования, выполнена при помощи метода вариационной статистики с применением пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc.). Для обработки результатов эксперимента был использован критерий сравнения Ньюмена – Кейсла.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении когнитивных функций крыс отмечено, что у животных группы положительного контроля (ПК) время, необходимое для выполнения задачи в тесте ТЭИ, было равное ( $18,100 \pm 6,861$ ) с, что сопоставимо с ранее проведенными исследованиями (рис. 1) [5].

В то же время у группы крыс НК данный период увеличился на 136,1 % ( $p < 0,05$ ), относительно животных группы ПК. При введении крысам Церебро, Пантогама и Фенибута наблюдалось уменьшение времени, затрачиваемого для выполнения задачи, по сравнению с группой животных НК, на 71,2 % ( $p < 0,01$ ), на 68,3 % ( $p < 0,05$ ) и 39,3 % ( $p < 0,05$ ) соответственно. На фоне применения Стимола и Гипоксена установлено сокращение периода до «подныривания» крыс, относительно животных группы НК, на 40,2 % ( $p < 0,05$ ) и 45,9 % ( $p < 0,05$ ) соответственно.



Статистически значимо (критерий Ньюмена – Кейсла) относительно ПК группы животных ( $p < 0,05$ ), относительно крыс НК группы ( $*p < 0,05$ ;  $\Delta p < 0,01$ ).

Рис. 1. Результаты определения когнитивных функций исследуемых групп животных в тесте ТЭИ в условиях экспериментальной ХТЭ и ее коррекции, здесь и далее:

- ПК – группа животных положительного контроля;
- НК – группа крыс негативного контроля;
- ПАН – группа крыс, которым вводили Пантогам;
- ЦЕР – группа животных, получавшая Церебро;
- Фен – крысы группы, которые получали Фенибут;
- СТ – группа крыс, получавшая Стимол;
- ГИП – группа животных, которым вводили препарат гипоксен

Исходя из данных оценки состояния когнитивных функций крыс, в тесте УРПИ, установили, что у животных группы ПК период времени латентного захода крыс в темный отсек был равен ( $34,000 \pm 3,586$ ) с (табл.).

У группы животных НК значение исследуемого показателя уменьшилось на 67,5 % ( $p < 0,05$ ), по сравнению с данными крыс группы ПК, что характеризует проявление когнитивного дефицита [4].

При применении Церебро, Пантогама и Фенибута было отмечено увеличение периода латентного захода в темный отсек установки, по отношению к животным группы НК, на 184,1 % ( $p < 0,05$ ), в 2,7 раза ( $p < 0,01$ ), в 3,1 раза ( $p < 0,05$ ).

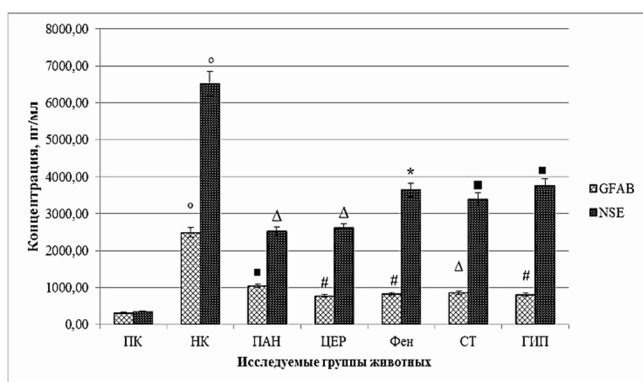
На фоне введения Стимола и Гипоксена установлено удлинение времени латентного захода животных в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ) и в 2,7 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно относительно крыс группы НК.

## Определение состояния когнитивных функций исследуемых групп крыс в тесте УРПИ в условиях экспериментальной ХТЭ и ее коррекции

Показатель	ПК	НК	ХА	ГК	Фен	СТ	ГИП
Количество заходов	1,0 ± 0,0	1,350 ± 0,694	1,230 ± 0,497	1,0 ± 0,000	1,0 ± 0,0	1,370 ± 0,111	1,0 ± 0,0
Время первого захода, с	34,420 ± 3,025	9,960 ± 3,586°	31,000 ± 4,231	41,58 ± 1,435	46,100 ± 3,008	31,600 ± 2,698	36,600 ± 3,574
Время в светлом, с	118,02 ± 0,658	116,000 ± 1,257	117,00 ± 0,538	117,9 ± 4,058	116,900 ± 4,648	118,500 ± 2,358	117,200 ± 3,208

При оценке изменений содержания биомаркеров нейродеградации установлено, что количество GFAB у группы животных ПК было (310,920 ± 12,203) пг/мл (рис. 2).

В то же время у крыс группы НК наблюдалось повышение концентрации исследуемого показателя, по сравнению с аналогичным значением группы животных ПК в 7,2 раза ( $p < 0,001$ ), что характеризует развитие нейродеградации в условиях экспериментальной ХТЭ. На фоне введения Пантогама, Церебро, Фенибута наблюдалось снижение концентрации GFAB, относительно крыс группы НК, на 138,4 % ( $p < 0,02$ ), в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ), в 1,9 раза ( $p < 0,001$ ) соответственно. При применении Стимола и Гипоксена установлено уменьшение концентрации GFAB на 189,6 % ( $p < 0,01$ ) и в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ), по отношению к животным группы НК.



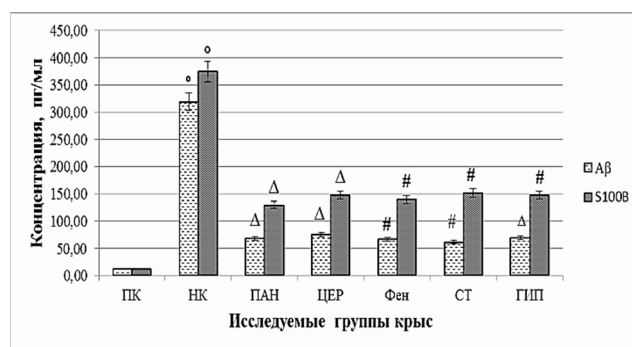
Статистически значимо (критерий Ньюмена – Кейлса) относительно ПК группы животных ( $^{\circ}p < 0,001$ ), относительно крыс НК группы (\* $p < 0,05$ ; # $p < 0,001$ ;  $\Delta p < 0,01$ ;  $\blacksquare p < 0,02$ ).

Рис. 2. Оценка содержания GFAB и NSE у исследуемых групп животных в условиях ХТЭ и ее коррекции

При изучении содержания NSE установлено, что его значение у группы крыс ПК составляло (345,220 ± 8,592) пг/мл (рис. 2), что соответствует ранее полученным данным [10]. Концентрация NSE у животных группы НК возросла в 18,3 раза ( $p < 0,01$ ), по отношению к группе крыс ПК.

На фоне введения Пантогама, Церебро, Фенибута установлено уменьшение содержания NSE, относительно животных группы НК, на 157,2 % ( $p < 0,01$ ), на 150,8 % ( $p < 0,01$ ), на 77,2 % ( $p < 0,05$ ). При применении Стимола и Гипоксена отмечено снижение концентрации NSE на 92,2 % ( $p < 0,02$ ) и на 73,6 % ( $p < 0,02$ ), по сравнению с группой крыс НК.

Содержание Аβ у животных группы ПК отмечено на уровне (11,980 ± 0,359) пг/мл (рис. 3), что согласуется с данными литературных источников [9]. У крыс группы НК наблюдалось повышение концентрации исследуемого маркера, по сравнению с животными группы ПК, в 25,8 раза ( $p < 0,001$ ), что является показателем нейродеградации у крыс в условиях смоделированной ХТЭ. На фоне введения Пантогама, Церебро, Фенибута отмечено достоверно значимое уменьшение количества Аβ, в 3,6 раза ( $p < 0,01$ ), в 3,1 раза ( $p < 0,01$ ), в 3,7 раза ( $p < 0,001$ ), относительно крыс группы НК. При применении Стимола и Гипоксена установлено снижение концентрации Аβ, по отношению к группе животных НК, в 4 раза ( $p < 0,001$ ) и в 3,6 раза ( $p < 0,01$ ).



Статистически значимо (критерий Ньюмена – Кейлса) относительно ПК группы животных ( $^{\circ}p < 0,001$ ), относительно крыс НК группы (# $p < 0,001$ ;  $\Delta p < 0,01$ ).

Рис. 3. Определение содержания Аβ и S100B у исследуемых групп животных в условиях экспериментальной ХТЭ и ее коррекции

Концентрация белка S-100B у группы крыс ПК определена на уровне (12,920 ± 0,445) пг/мл, что согласуется с данными литературы [5]. Содержание исследуемого параметра у животных группы НК возросло в 29 раз ( $p < 0,001$ ), по отношению к крысам группы ПК. При введении Пантогама, Церебро, Фенибута наблюдалось уменьшение концентрации S-100B, по сравнению с группой животных НК, на 182,4 % ( $p < 0,01$ ), на 153,1 % ( $p < 0,01$ ), на 165,9 % ( $p < 0,001$ ). На фоне применения Стимола и Гипоксена установлено снижение содержания S-100B на 146,9 % ( $p < 0,001$ ) и на 153,1 % ( $p < 0,001$ ), относительно крыс группы НК.

Патогенез ХТЭ представлен комплексом механизмов, обусловленных недостаточным уровнем

физиологических обменных процессов и нарушением метаболических систем головного мозга. Так, холина альфосцерат в организме метаболизируется в холин, который стимулирует синтез ацетилхолина, в свою очередь, последний стимулирует холинэргическую передачу импульсов. Таким образом, восстанавливается функция рецепторов, улучшается мозговой кровоток, тем самым нормализуя обменные процессы, что выражается в устранении когнитивного дефицита у крыс на 184,1 % ( $p < 0,05$ ) в тесте УРПИ и на 71,2 % ( $p < 0,01$ ) в тесте ТЭИ, по отношению к группе крыс НК [3]. Гопантенная кислота и Фенибут, механизм действия которых обусловлен наличием в своей структуре гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), стимулируя ГАМК<sub>B</sub>-рецептор-канальный комплекс, воздействуя на передачу нервных импульсов, нормализуют метаболизм нейронов и глии, посредством увеличения скорости кровообращения мозга, что находит отражение в достоверно меньшей концентрации таких показателей, как GFAB на 138,4 % ( $p < 0,02$ ) и в 1,9 раза ( $p < 0,001$ ) соответственно, NSE на 157,2 % ( $p < 0,01$ ) и на 77,2 % ( $p < 0,05$ ), относительно животных группы НК. Фармакологический эффект Стимола и Гипоксена обусловлен стимулирующим действием на активность митохондрий, в виде поддержания аэробных процессов метаболизма, посредством воздействия на ферменты дыхательной цепи, что препятствует образованию лактата и дальнейшему каскаду патобиохимических процессов, характерных для ХТЭ, вышеперечисленное отражается в виде снижения концентрации Аβ в 4 раза ( $p < 0,001$ ) и в 3,6 раза ( $p < 0,01$ ), и S100B на 146,9 % ( $p < 0,001$ ) и на 153,1 % ( $p < 0,001$ ), относительно крыс группы НК [2].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальная модель ХТЭ, как видно из результатов исследования, приводит к дегенерации клеток центральной нервной системы, что выражается в повышенной концентрации маркеров патологических состояний головного мозга у животных группы НК, по сравнению со значениями группы крыс ПК.

В то же время гибель нейронов и глии подтверждается развитием когнитивного дефицита.

Применение вышеперечисленных препаратов оказывает воздействие на течение заболевания, в виде снижения концентрации биомаркеров нейродеградации и некотором восстановлении когнитивных функций, по отношению к животным группы НК, что позволяет предположить наличие церебропротекторной активности.

По степени выраженности фармакологического эффекта исследуемые препараты можно расположить в следующем порядке: Стимол > Фенибут > Гопантенная кислота > Гипоксен > Холина альфосцерат.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Воронков А.В., Мирошниченко К.А., Поздняков Д.И. и др. Производные пиримидина – перспективные корректоры метаболических и функциональных нарушений головного мозга в условиях хронической травматической энцефалопатии // Вестник смоленской государственной медицинской академии. – 2019. – № 3 (18). – С. 18–24.
2. Громова О.А., Захарова И.Н., Торшин И.Ю. и др. О патофизиологической терапии астении у детей препаратами цитруллина малат // Медицинский совет. – 2017. – № 19.
3. Парфенов В.А. Сосудистые когнитивные расстройства. Применение холина альфосцерата // Нервные болезни. – 2013. – № 2. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sosudistye-kognitivnye-rasstroystva-primeneniye-holina-alfostserata> (дата обращения: 08.11.2019).
4. Тюренков И.Н., Воронков А.В., Робертус А.И. Изменение мнестической и психоэмоциональной функции у животных с недостаточностью половых гормонов и коррекция их ГАМК-ергическими средствами // Психофармакология и биологическая наркология. – 2008. – Т. 8, № 1 (2).
5. Heidari K., et al. Prediction of neuropsychological outcome after mild traumatic brain injury using clinical parameters, serum S100B protein and findings on computed tomography // Brain injury. – 2015. – No. 1 (29). – P. 33–40.
6. McKee A.C., Stein T.D., Kiernan P.T., Alvarez V.E. The neuropathology of chronic traumatic encephalopathy // Brain pathology. – 2015. – No. 3 (25). – P. 350–364.
7. Pozdnyakov D.I., et al. The administration of the new pyrimidine derivative-4-{2-[2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-Vinyl]-6-Ethyl-4-Oxo-5-Phenyl-4H-Pyrimidine-1-Il} Benzulfamide restores the activity of brain cells in experimental chronic traumatic encephalopathy by maintaining mitochondrial function // Medicina. – 2019. – No. 7 (55). – P. 386.
8. Randy V.O., Lili-Naz H. Pathological Assessment of Chronic Traumatic Encephalopathy: Review of Concepts and Methodology // Academic forensic pathology: the official publication of the national association of medical examiners. – 2018. – С. 555–564. – ISSN: 1925-3621. – <https://doi.org/10.1177/1925362118797729> 2018.
9. Smith D.H., et al. Immediate coma following inertial brain injury dependent on axonal damage in the brainstem // Journal of neurosurgery. – 2000. – No. 2 (93). – P. 315–322.
10. Whalley K., O'Neill P., Ferretti P. Changes in response to spinal cord injury with development: Vascularization, hemorrhage and apoptosis // Neuroscience. – 2006. – No. 137. – P. 821–832. – doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.07.064.

## REFERENCES

1. Voronkov A.V., Miroshnichenko K.A., Pozdnyakov D.I., et al. Proizvodnyye pirimidina – perspektivnyye korrektory metabolicheskikh i funktsional'nykh narusheniy golovnogo mozga v usloviyakh khronicheskoy travmaticheskoy entsefalopatii [Pyrimidinederivatives – promising correctors of metabolic and functional brain disorders in chronic traumatic encephalopathy]. *Vestnik smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii* [Bulletin of the Smolensk State Medical Academy], 2019, no. 3 (18), pp. 18–24. (In Russ.; abstr. in Engl.).
2. Gromova O.A., Zakharova I.N., Torshin I.Yu., et al. O patofiziologicheskoy terapii astenii u detey preparatami tsitrullina malat [On the pathophysiological treatment

of asthenia in children with citrulline amalate]. *Medicinskij sovet* [Medical council], 2017, no. 19. (In Russ.; abstr. in Engl.).

3. Parfenov V.A. Sosudistyye kognitivnyye rasstroystva. Primeneniye kholina alfostserata [Vascular cognitive impairment. The use of choline alfoscerate] *Nervnyye bolezni* [Nervous diseases], 2013, no. 2; URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sosudistyye-kognitivnyye-rasstroystva-primeneniye-holina-alfostserata> (date of viewing: 08.11.2019). (In Russ.; abstr. in Engl.).

4. Tyurenkov I.N., Voronkov A.V., Robertus A.I. Izmeneniye mnesticheckoy i psikhoemotsional'noy funktsii u zhivotnykh s nedostatochnost'yu polovykh gormonov i korrektsiya ikh GAMK-yergicheskimi sredstvami [Change in mnestic and psychoemotional function in animals with sex hormone deficiency and their correction with GABA-ergic means]. *Psihofarmakologiya i biologicheskaja narkologiya* [Psychopharmacology and Biological Narcology]. 2008, vol. 8, no. 1 (2). (In Russ.; abstr. in Engl.).

5. Heidari K., et al. Prediction of neuropsychological outcome after mild traumatic brain injury using clinical parameters, serum S100B protein and findings on computed tomography. *Brain injury*, 2015, no. 1 (29), pp. 33–40.

6. McKee A.C., Stein T.D., Kiernan P.T., Alvarez V.E. The neuropathology of chronic traumatic encephalopathy. *Brain pathology*, 2015, no. 3 (25), pp. 350–364.

7. Pozdnyakov D.I., et al. The administration of the new pyrimidine derivative—4-{2-[2-(3, 4-Dimethoxyphenyl)-Vinyl]-6-Ethyl-4-Oxo-5-Phenyl-4H-Pyrimidine-1-Il} benzulfamide restores the activity of brain cells in experimental chronic traumatic encephalopathy by maintaining mitochondrial function. *Medicina*, 2019, no. 7 (55), pp. 386.

8. Randy V.O., Lili-Naz H. Pathological assessment of chronic traumatic encephalopathy: review of concepts and methodology. *Academic forensic pathology: the official publication of the national association of medical examiners*, 2018, pp. 555–564; ISSN: 1925-3621; URL: <https://doi.org/10.1177/1925362118797729> 2018.

9. Smith D.H., et al. Immediate coma following inertial brain injury dependent on axonal damage in the brainstem. *Journal of neurosurgery*, 2000, no. 2 (93), pp. 315–322.

10. Whalley K., O'Neill P., Ferretti P. Changes in response to spinal cord injury with development: Vascularization, hemorrhage and apoptosis. *Neuroscience*. 2006. no. 137, pp. 821–832; doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.07.064.

#### Контактная информация

**Воронков Андрей Владиславович** – д. м. н., профессор, зав. кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», e-mail: [prohor.77@mail.ru](mailto:prohor.77@mail.ru)