

УДК 616.831-005.4-085.31: 547.466.3

**НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО
ГАМК-РГПУ-195 ПРИ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА****Мазина Н.В., Волотова Е.В., Куркин Д.В.***Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, e-mail: fibfuv@mail.ru*

Целью проведённого исследования явилось изучение нейропротекторного действия нового производного ГАМК-соединения под лабораторным шифром РГПУ-195 в различных дозах на модели ишемии головного мозга, вызванной необратимой одномоментной окклюзией общих сонных артерий. Методы: исследование выполнено на крысах самцах. Нарушение мозгового кровообращения моделировалось путём необратимой билатеральной окклюзии общих сонных артерий, за 30 минут до которой вводилось исследуемое соединение – РГПУ-195 в дозах 11, 22, 44 и 88 мг/кг или препарат сравнения фенибут в дозе 25 мг/кг. Через 72 часа после окклюзии общих сонных артерий оценивали степень неврологического дефицита по шкале McGraw, психоневрологическое состояние животных в тестах «открытого поля», «условной реакции пассивного избегания», «экстраполяционного излечения». Результаты: при необратимой окклюзии общих сонных артерий профилактическое введение соединения РГПУ-195 в дозе 44 мг/кг оказывало нейропротекторное действие, что заключалось в снижении смертности животных, уменьшении выраженности у них неврологического, когнитивного и поведенческого дефицита по сравнению с животными, получавшими в тех же условиях физиологический раствор. Заключение: целесообразно дальнейшее углубленное изучение нейропротекторных свойств соединения РГПУ-195 продолжить в дозе 44 мг/кг.

Ключевые слова: ГАМК, ишемия, головной мозг, выживаемость, неврологический дефицит, крысы**NEUROPROTECTIVE ACTION OF NEW GABA DERIVATIVE –
RGPU-195 IN CEREBRAL ISHEMIA****Mazina N.V., Volotova E.V., Kurkin D.V.***Volgograd State Medical University, Volgograd, e-mail: fibfuv@mail.ru*

The purpose of this research is to investigate a neuroprotective action of compound RGPU-195 – new GABA derivative, that was using in few doses on model of brain ischemia caused by bilateral common carotid artery occlusion (BCCAO). Methods: in this research we used male rats. Brain ischemia was modelling by permanent BCCAO. Animals received a treatment 30 minutes before occlusion. RGPU-195 was used in doses 11, 22, 44 и 88 mg/kg. Phenibut was used as comparison drug in dose 25 mg/kg. 72 hours after permanent BCCAO we assessed severity of neurological deficit by McGraw score. Psychoneurological condition of animals was assessed in «open field», «passive avoidance task», «Extrapolation Escape Task». Results: compound RGPU-195 in dose 44 mg/kg produces neuroprotective action in prophylactic use in animals with permanent BCCAO that was expressed in reduction of animals mortality, reduction both of neurological and cognitive deficit in comparison with control group of animals that recieved saline solution as a treatment. Conclusion: there is expedient to make a in-depth research of neuroprotective action of compound RGPU-195 in dose 44 mg/kg.

Keywords: GABA, brain ischemia, mortality, neurological deficit, rats

Сосудистые заболевания головного мозга продолжают оставаться одной из важнейших проблем в современном здравоохранении, поскольку во всем мире заболеваемость, инвалидизации и смертность от данной нозологии остаются на высоком уровне. В структуре терапевтического воздействия при цереброваскулярных заболеваниях одним из направлений является эффективная и своевременно начатая нейропротекторная терапия, которая обеспечивает увеличение периода выживания нейронов в условиях повреждающего действия каскада нейрхимических реакций как при острых сосудистых катастрофах (инсульт, травма и др.), так и при хронических патологических процессах в нервной системе [1, 7]. Существует огромное количество препаратов, позиционирующихся как нейропротекторные, в том числе и препараты с ГАМКергическим механизмом действия [5, 6]. В результате исследований, проведённых на кафедре фармакологии и биофарма-

ции ФУВ ВолгГМУ, было выявлено вещество под лабораторным шифром РГПУ-195, являющееся производным ГАМК и обладающее ноотропным, анксиоседативным, антидепрессивным, стресспротективным действием [3,4]. Совокупность данных свойств позволяет предположить наличие у данного соединения и нейропротекторной активности, поэтому целью работы стало изучение возможного нейропротективного действия нового производного ГАМК-соединения РГПУ-195 в различных дозах на модели ишемии головного мозга, вызванной необратимой одномоментной окклюзией общих сонных артерий.

Материалы и методы исследования

Эксперимент проведён на половозрелых крысах-самцах массой 200–220 г. В ходе исследования были сформированы следующие группы: группа ложнооперированных животных (ЛО); контрольная группа (негативный контроль) – животные, подвергшиеся необратимой одномоментной окклюзии общих сонных артерий, получавших физиологический раствор;

пять групп животных, получавших в тех же условиях исследуемое соединение РГПУ-195 в дозах соответственно 11, 22, 44 и 88 мг/кг и препарат сравнения фенибут в дозе 25 мг/кг.

Нарушение мозгового кровообращения моделировалось путём необратимой билатеральной окклюзии общих сонных артерий на наркотизированных хлоралгидратом (400мг/кг внутривенно) крысах [2]. Все препараты вводились внутривенно однократно за 30 минут до наложения лигатур на общие сонные артерии. Животным ЛО группы подвешивались лигатуры под общие сонные артерии без дальнейшего затягивания.

О нейропротекторном действии исследуемого производного ГАМК (соединения РГПУ-195) судили по его влиянию на выживаемость, степень развития неврологического дефицита у животных с недостаточностью мозгового кровообращения. Неврологический дефицит регистрировался по шкале McGrow через 6, 12, 24, 48 и 72 часа после моделирования патологии. Для оценки когнитивной и мнестической функции использовались тесты: «условная реакция пассивного избегания» (УРПИ) и «тест экстраполяционного избегания» (ТЭИ), для оценки двигатель-

ной и ориентировочно-исследовательской активности – тест «открытое поле» (ОП).

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

Результаты исследования и их обсуждение

Необратимая окклюзия общих сонных артерий приводила к гибели животных. Суммированные данные представлены в табл. 1. Так к концу третьих суток в группе негативного контроля процент летальных исходов составил 70%. Профилактическое однократное введение исследуемого соединения в дозе 22 и 44 мг/кг оказывало защитный эффект, о чём свидетельствовало достоверно меньшее количество летальных исходов в указанных группах (табл. 1)

Таблица 1

Летальность животных после необратимой окклюзии общих сонных артерий

Группа животных	Доза, мг/кг	Время после окклюзии общих сонных артерий									
		6 ч		12 ч		24 ч		48 ч		72 ч	
		n/N	%	n/N	%	n/N	%	n/N	%	n/N	%
ЛО	-	0/10	0%	0/10	0%	0/10	0%	0/10	0%	0/10	0%
Контроль	-	5/20	25%	6/20	30%	8/20	40%	12/20	60%	14/20	70%
РГПУ-195	11	2/10	20%	3/10	30%	5/10	50%	6/10	60%	6/10	60%
	22	1/10	10%	2/10	20%	4/10	40%	4/10	40%	4/10	40%*
	44	0/10	0%	2/10	20%	3/10	30%	3/10	30%*	3/10	30%*
	88	0/10	0%	3/10	30%	4/10	40%	5/10	50%	6/10	60%
Фенибут	25	2/20	10%	4/20	20%	6/20	30%	8/20	40%	8/20	40%*

Примечание: *n* – количество умерших животных; *N* – количество животных в группе; ЛО – ложнооперированные животные; % – процент летальных исходов в группе; * – различия достоверны по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$, критерий Фишера).

Степень неврологического дефицита у животных контрольной группы после моделирования ишемии возрастала в первые 24 часа с $5,9 \pm 0,63$ до $7,3 \pm 0,56$ балла. В последующие 48 часов происходило повышение балла неврологического дефицита до $7,8 \pm 0,79$. У выживших животных наблюдались вялость, односторонний и двусторонние блефароптозы, общий тремор, маневные движения, парезы одной из конечностей.

У животных, получавших соединение РГПУ-195 в дозах 22 и 44 мг/кг, а также фенибут, суммарный индекс McGrow по сравнению с показателями контрольной группы был достоверно ниже (табл. 2). Так, к 72 часу наблюдений эти показатели составили соответственно $5,6 \pm 1,22$, $4,5 \pm 1,21$ и $5,15 \pm 0,95$ балла, что на

22; 42 и 34% ниже, чем в контрольной группе.

При оценке двигательной и ориентировочно-исследовательской активности в тесте ОП установлено, что животные, получавшие РГПУ-195 в дозе 44 мг/кг и фенибут, пересекали большее количество квадратов и выполняли большее количество стоек и заглядываний в норки, чем животные негативного контроля (рис. 1).

В тестах УРПИ и ТЭИ через 72 часа после окклюзии общих сонных артерий у животных оценивали мнестическую функцию. Исследуемое соединение РГПУ-195 в дозе 22 и 44 мг/кг, а также фенибут в дозе 25 мг/кг увеличивали латентный период первого захода в темный отсек в тесте УРПИ, при этом уменьшали количество животных в группе, посетивших его, а также уменьшали латент-

ный период решения экстраполяционной задачи и увеличивали число животных, решивших ее в тесте ТЭИ, по сравнению с группой негативного контроля (рис. 2).

Таблица 2

Степень неврологических нарушений у животных после окклюзии сонных артерий

Группы животных	Доза, мг/кг	Время после окклюзии сонных артерий				
		6 часов	12 часов	24 часа	48 часов	72 часа
ЛО	-	0,3 ± 0,081	0	0	0	0
Контроль-ишемия	-	5,85 ± 0,63*	6,85 ± 0,52*	7,3 ± 0,56*	7,82 ± 0,63*	7,75 ± 0,79*
РГПУ-195	11	5,5 ± 0,86	6,0 ± 0,98	6,9 ± 1,1	7,7 ± 0,99	7,5 ± 1,3
	22	4,8 ± 0,77	4,9 ± 0,87	5,6 ± 1,21	5,6 ± 1,23	5,6 ± 1,23
	44	4,1 ± 0,43#	4,5 ± 0,97#	4,5 ± 1,22#	4,6 ± 1,20#	4,5 ± 1,21#
	88	4,2 ± 0,48#	5,6 ± 0,98	5,7 ± 1,22	6,2 ± 1,28	7,3 ± 1,12
Фенибут	25	5,0 ± 0,47	5,72 ± 0,57	5,8 ± 0,70	5,52 ± 0,87#	5,15 ± 0,91#

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с ЛО группой ($p < 0,05$); # – различия достоверны по критерию Данна в сравнении с группой негативного контроля (контроль-ишемия) ($p < 0,05$).

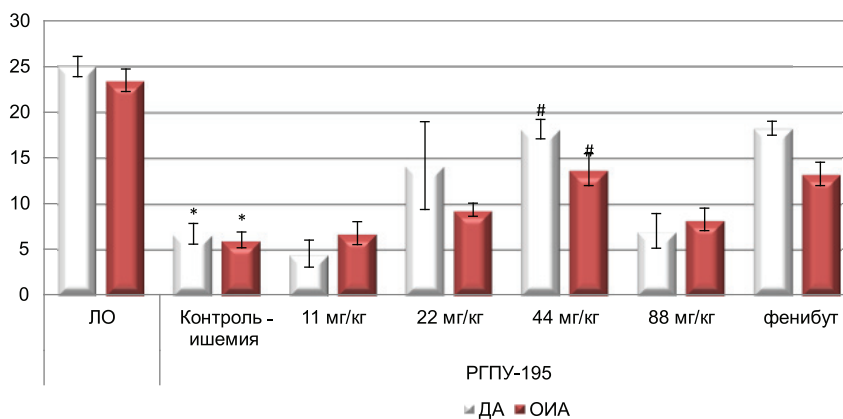


Рис. 1. Двигательная и ориентировочно-исследовательская активность животных через 72 часа после необратимой одномоментной окклюзии общих сонных артерий. Примечание: ДА – двигательная активность (количество пересечённых квадратов животными в тесте ОП); ОИА – ориентировочно-исследовательская активность (количество суммированных актов стоек и заглядываний в норки; * – различия достоверны по критерию Данна в сравнении с ЛО ($p < 0,05$); # – различия достоверны по критерию Данна в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$).

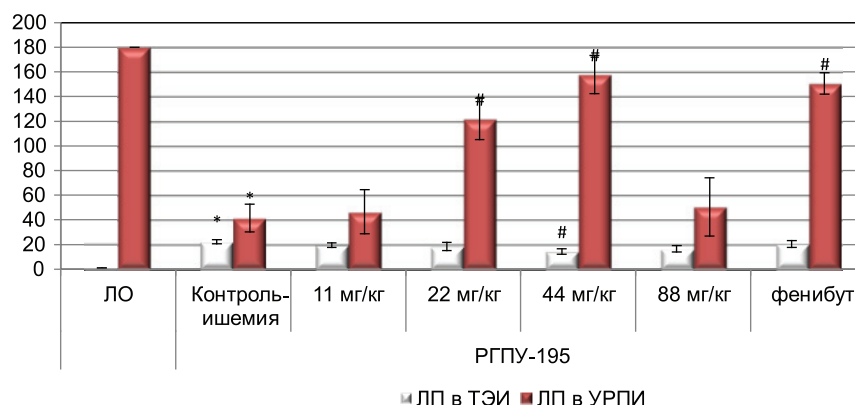


Рис. 2. Оценка когнитивной и мнестической функции животных через 72 часа после необратимой одномоментной окклюзии общих сонных артерий. Примечание: ЛП – латентный период (с); ЛО – ложнооперированные животные; * – различия достоверны по критерию Данна в сравнении с ЛО ($p < 0,05$); # – различия достоверны по критерию Данна в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$).

Заключение

Таким образом, необратимая окклюзия общих сонных артерий сопровождается высокой смертностью животных с развитием у них тяжелого психоневрологического дефицита. В указанных условиях максимально высокой нейропротективной активностью, реализующейся в увеличении количества выживших животных, уменьшении степени выраженности неврологических, поведенческих нарушений и благоприятным течением клинической картины обладает соединение РГПУ-195 в дозе 44 мг/кг. Полученные результаты исследований являются экспериментальным обоснованием целесообразности дальнейшего углубленного изучения производного ГАМК–соединения под лабораторным шифром РГПУ-195 в дозе 44 мг/кг в качестве потенциального нейропротектора в условиях ишемии головного мозга.

Список литературы

1. Виничук С.М. Новые возможности патогенетической коррекции ишемических повреждений ткани головного мозга: взгляд на проблему. – Укр. Мед. Часопис, 2(70). – III/IV 2009.
2. Волотова Е.В., Мазина Н.В., Куркин Д.В., Тюренков И.Н. Нейропротективное действие гидрохлорида β-фенилглутаминовой кислоты (РГПУ-135) при недостаточности мозгового кровообращения у крыс // Вестник ВолгоГМУ. – 2013. – № 1.
3. Волотова Е.В. Изучение действия производных гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот при ишемии головного мозга в условиях блокады синтеза оксида азота / Е.В. Волотова, Н.В. Мазина, Д.А. Бакулин, Е.В. Петрова, О.Г. Шишлянникова // Инновации в современной фармакологии: IV Съезд фармакологов России 18–21 сентября 2012. – Казань 2012. – С. 38.
4. Епишина В.В. Сравнительное изучение психотропной активности гетероциклических производных гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Волгоград, 2006.
5. Сравнительная оценка нейропротекторного действия фенибута и пирацетама в условиях экспериментальной ишемии мозга у крыс / И.Н. Тюренков, М.Н. Багметов, В.В. Епишина, Л.Е. Бородкина, А.В. Воронков // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2006. – Т.69, № 3. – С. 19–22.
6. Церебропротекторное действие ГАМК-ергических средств при ишемии головного мозга / И.Н. Тюренков, Л.Е. Бородкина, М.Н. Багметов, В.В. Епишина // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7, Ч. 2. – С. 1982.
7. Острая церебральная недостаточность / В.И. Черный, В.Н. Ельский, Г.А. Городник, А.Н. Колесников. – Донецк: ООО «ИПП «Промінь», 2007. – 514 с.

References

1. Vinichuk S.M. Ukr. Med. Chasopis, 2(70) – III/IV 2009.
2. Volotova E.V., Mazina N.V., Kurkin D.V., Tyurenkov I.N. Vestnik VolgGMU. 2013. no. 1.
3. Volotova E.V., Mazina N.V., Bakulin D.A., Petrova E.V., Shishljannikova O.G. //Kazan' IV Sezd farmakologov Rossii «Innovacii v sovremennoj farmakologii» Kazan' 2012. pp. 38.
4. Epishina V.V. Avtoreferat, dis. kand. med. nauk. Volgograd, 2006.
5. Tyurenkov I.N., Bagmetov M.N., Epishina V.V., Borodkina L.E., Voronkov A.V. Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. 2006, T. 69, no. 3. pp. 19–22.
6. Tyurenkov I.N. Zhurnal «Psihofarmakologija i biologicheskaja narkologija». 2007. T.7, Ch.2. pp. 1982.
7. Chernij V.I., El'skij V.N., Gorodnik G.A., Kolesnikov A.N. Ostraja cerebral'naja nedostatocnost'. Doneck 2007. 514 p.

Рецензенты:

Бородкина Л.Е., д.м.н., доцент кафедры фармакологии и биофармации, ФУВ ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Волгоград;

Бугаева Л.И., д.б.н., профессор, заместитель директора НИИ фармакологии ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Волгоград;

Работа поступила в редакцию 03.06.2013.