

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ МАГНИЯ ОКСИБУТИРАТА, МАГНИЯ СУЛЬФАТА И КАВИНТОНА ПРИ ИХ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ВВЕДЕНИИ НА МОДЕЛИ ОККЛЮЗИИ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ У КРЫС

И. Н. Тюренков, А. А. Литвинов, Е. В. Волотова, Д. В. Куркин,
А. П. Дарманян, А. А. Озеров¹

На модели билатеральной окклюзии общих сонных артерий у крыс было выявлено дозозависимое церебропротекторное действие магния оксибутирата. Так, при введении его в дозе 150 мг/кг было обнаружено снижение летальности крыс в 9,3 раза, по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$). Введение магния оксибутирата и магния сульфата приводило к снижению выраженности неврологического дефицита по шкале McGraw на 50 и 20 %, а по шкале Coombs – в 3 и 2 раза, соответственно ($p \leq 0,05$). Также у крыс, получавших магния оксибутират (150 мг/кг), наблюдались более выраженная двигательная и ориентировочно-исследовательская активность в тесте “открытое поле”, а также сохранение мнестического статуса в тестах “условная реакция пассивного избегания” и “экстраполяционного избегания”. Введение магния оксибутирата в дозе 150 мг/кг было связано со снижением отека головного мозга у крыс после моделирования нарушения мозгового кровообращения в 3 раза ($p \leq 0,05$), по сравнению с магния сульфатом и кавинтоном.

Ключевые слова: магния оксибутират; окклюзия общих сонных артерий; церебропротекторное действие; нарушение мозгового кровообращения.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность поиска новых фармакологических средств коррекции нарушений мозгового кровообращения (НМК) обусловлена наличием критически высокого удельного веса сосудистых заболеваний мозга в структуре общей заболеваемости и смертности, а также высокими показателями временной утраты трудоспособности и первичной инвалидизации населения РФ. По данным ВОЗ, в 2013 г. инсульт унес свыше 7,5 млн. жизней людей планеты, что составило 12 % от всех смертей. Смертность от НМК в России занимает 2 место, уступая лишь кардиоваскулярной патологии, и составляет в острой стадии инсульта около 35 % [3]. Наиболее распространенным и тяжелым по течению и своим последствиям сосудистым поражением мозга является именно инсульт, летальность при котором выше, чем при инфаркте миокарда, а перспективы восстановления трудоспособности ограничены.

На сегодняшний день лекарственные препараты, применяемые в клинической практике, не обеспечивают решение проблемы терапии НМК. Очевидна потребность в новых эффективных церебропротекторных средствах, которые могли бы улучшить прогноз заболевания, предупреждать развитие нейродегенера-

тивных изменений мозга, улучшать качество жизни пациентов.

Особый интерес представляют новые соединения с плеiotропными фармакологическими эффектами, позволяющими повысить эффективность лечения и улучшить прогноз заболевания. Таким веществом является магния оксибутират, так как он сочетает в своей структуре магний и гамма-оксимасляную кислоту (ГОМК) [6, 7]. Известно, что магний обладает природным антагонизмом к ионам кальция, которые играют ключевую роль в процессе эксайтотоксической смерти нейронов при ишемии и травме мозга [13]. В то же время ГОМК обладает противогипоксическими, антиоксидантными свойствами, способна предотвращать повреждение клетки путем снижения интенсификации процессов лактат-ацидоза, гликолиза, липолиза, усиления митохондриального дыхания [12].

Целью настоящего исследования являлась оценка церебропротекторных свойств различных доз магния оксибутирата в различных дозах в сравнении с известными препаратами магния сульфатом и кавинтоном на модели НМК головного мозга крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние магния оксибутирата в различных дозах на выживаемость и степень неврологического, когнитивного, поведенческого дефицита, гидратации головного мозга животных изучали на модели окклюзии общих сонных артерий (ОСА) головного мозга крыс. Иссле-

¹ Волгоградский государственный медицинский университет, Россия, 400131, Волгоград, пл. Павших борцов.

дование было проведено на половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 200 – 220 г (питомник “Рапполово”, Санкт-Петербург). Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики (GLP) и Приказу МЗ РФ № 267 от 19.06.2003г. “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”, опубликованных в 1985 г. Советом международных медицинских организаций. Данные об экспериментальных группах, сформированных по принципу рандомизации, представлены в табл. 1.

Все исследуемые соединения и препараты сравнения вводились однократно внутривенно профилактически за 30 мин до моделирования ОСА. НМК моделировали проведением билатеральной одномоментной ОСА [6]. Результаты представлены в виде: число выживших и число погибших животных, а также шанс выживания как отношение числа выживших животных к числу погибших животных в группе [5]. Неврологический дефицит оценивали через 6, 12, 24, 48 и 72 ч после моделирования по балльной шкале McGraw в модификации Ганнушкиной И. В. [1] и шкале Combs [10]. Исследование поведенческой активности проводилось в тесте “Открытое поле” (ОП) через 72 ч после моделирования ишемии. Оценка мнестических функций животных проводилась в тесте “Условная реакция пассивного избегания” (УРПИ) и “Тесте

экстраполяционного избавления” (ТЭИ) через 72 ч и 7 сут после окклюзии ОСА. Животных выводили из эксперимента путем декапитации с использованием гильотины. Выраженность постишемического отека головного мозга оценивали по степени гидратации тканей головного мозга. Для этого после декапитации животного головной мозг извлекали из черепной коробки, взвешивали и оставляли в сушильном шкафу при 100 °С на 24 ч, затем определяли массовую долю воды в ткани [11].

Показатели балльной оценки неврологического дефицита в группе животных представлены в виде медианы и интерквартильной широты (25-й перцентиль; 75-й перцентиль) [5]. Все остальные количественные показатели каждой группы животных были отражены в таблицах и в тексте как выборочное среднее значение \pm стандартная ошибка средней. Сравнение номинальных данных (баллов) между группами проведено с использованием критерия χ^2 [5, 8], позволяющего оценить совпадение или различие частот, с которыми встречаются те или иные показатели баллов в каждой группе. Множественные сравнения количественных данных проводились с помощью критерия Крускала – Уоллиса и критерия Данна [2]. Различия принимались статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Обработку данных производили с помощью пакетов программ Microsoft Excel 2013, BioStat 2008 и Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 72 ч после моделирования ишемии было обнаружено, что наибольший шанс выживания по сравнению с контрольными животными был в группах, получавших МГОМК в дозе 150 мг/кг и кавинтон в дозе

Таблица 1. Группы животных, сформированные по принципу рандомизации

Название группы	Модель и препарат введения	Количество животных (n)
ЛО	Ложная операция	10
Контроль ОСА	ОСА + физиологический раствор	20
МГОМК 100 мг/кг	ОСА + МГОМК 100 мг/кг	10
МГОМК 150 мг/кг	ОСА + МГОМК 150 мг/кг	10
МГОМК 200 мг/кг	ОСА + МГОМК 200 мг/кг	10
Магния сульфат 300 мг/кг	ОСА + магния сульфат 300 мг/кг	10
Кавинтон 3,2 мг/кг	ОСА + кавинтон 3,2 мг/кг	10

Примечание: ЛО – ложнооперированные животные, МГОМК – магния оксидбутират.

Таблица 2. Летальность животных в условиях ОСА на фоне однократного профилактического введения различных доз МГОМК, магния сульфата и кавинтона

Показатель	Контроль ОСА	МГОМК			Магния сульфат 300 мг/кг	Кавинтон 3,2 мг/кг
		100 мг/кг	150 мг/кг	200 мг/кг		
Число выживших животных	6	5	8	4	6	8
Число погибших животных	14	5	2	6	4	2
Шанс выживания	0,43	1,00	4,00	0,67	1,50	4,00
Относительный шанс ($\pm 95\%$ ДИ)	–	2,3 \pm 1,1	9,3 \pm 1,3*	1,6 \pm 1,1	3,5 \pm 1,2	9,3 \pm 1,3*

* Различия статистически значимы по сравнению с группой контроль ОСА при $p \leq 0,05$, критерий χ^2 . ДИ – доверительный интервал.

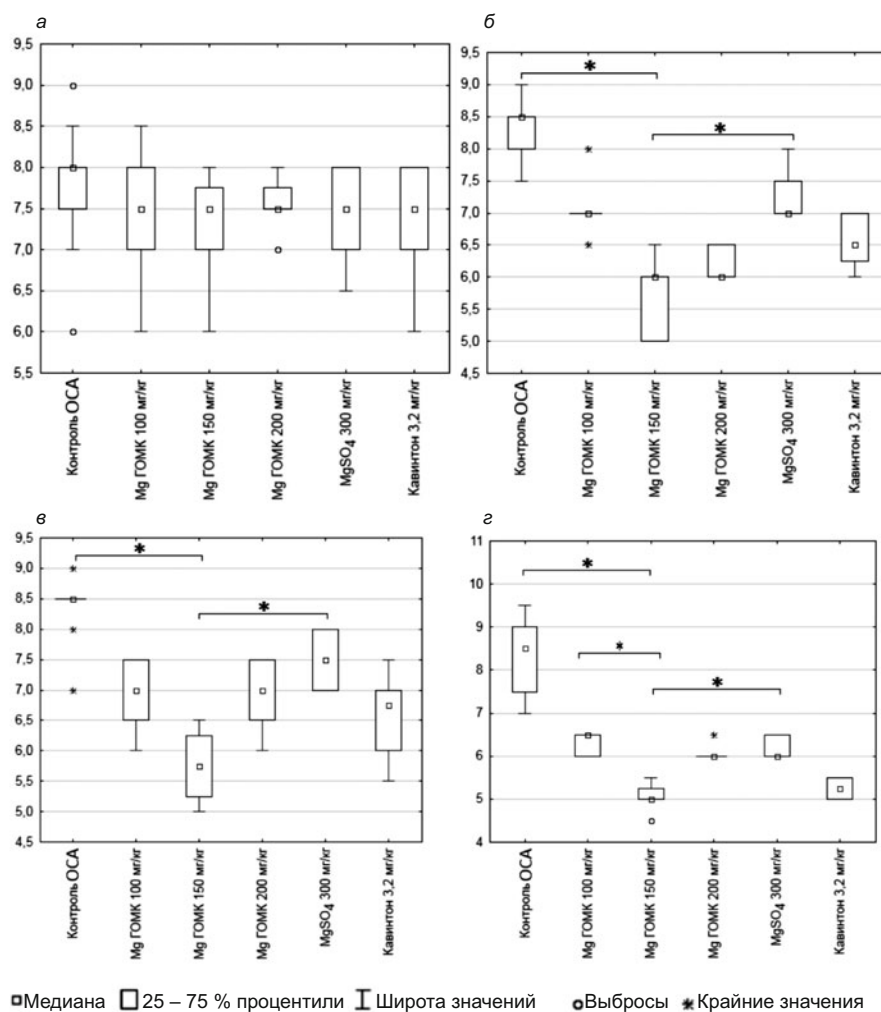


Рис. 1. Выраженность неврологического дефицита по шкале McGraw у животных через 6 (а), 12 (б), 24 (в) и 72 ч (з) после моделирования OCA и профилактическом введении исследуемых соединений.

По оси абсцисс – исследуемые соединения, по оси ординат – баллы; * различия статистически значимы при $p \leq 0,05$, критерии Крускала – Уоллиса и Данна.

3,2 мг/кг. Относительный шанс выживания для этих

Таблица 3. Двигательная и ориентировочно-исследовательская активность крыс в тесте ОП через 72 ч после моделирования OCA на фоне профилактического введения исследуемых соединений ($M \pm m$)

Группа	Количество пересеченных квадратов животными	Сумма количества норок и стоек животных
ЛО	$27,4 \pm 2,5^*$	$13,1 \pm 0,8^*$
Контроль OCA	$6,0 \pm 0,9$	$3,2 \pm 0,5$
MГOMK 100 мг/кг	$10,2 \pm 1,5$	$4,4 \pm 0,5$
MГOMK 150 мг/кг	$20,6 \pm 1,3^{*\wedge}$	$10,9 \pm 1,1^{*\wedge}$
MГOMK 200 мг/кг	$11,2 \pm 1,0$	$5,8 \pm 0,8$
Магния сульфат 300 мг/кг	$7,3 \pm 0,7$	$3,2 \pm 0,5$
Кавинтон 3,2 мг/кг	$20,1 \pm 1,4^{*\wedge}$	$9,9 \pm 0,9^{*\wedge}$

Здесь и в табл. 4 – 6: * различия статистически значимы по сравнению с группой контроль OCA при $p \leq 0,05$; \wedge различия статистически значимы по сравнению с группой магния сульфат 300 мг/кг при $p \leq 0,05$.

групп равен $9,3 \pm 1,3$. Это означает, что шанс выживания в указанных группах в 9 раз выше, чем у контрольных животных (табл. 2).

У животных, подвергшихся ишемическому повреждению головного мозга, развивались стойкие явления неврологического дефицита. Так, при оценке состояния по шкалам McGraw и Combs у животных в первые часы от момента моделирования патологии наблюдались вялость, замедленность движений, наличие птоза век, параличей и парезов конечностей, тремора, манежных движений животных, появление судорог и наступление коматозного состояния, а также нарастание нарушений моторики и координации на стержне. Так через 6 ч от момента воспроизведения ишемии неврологический дефицит во всех группах животных был примерно одинаков, так как диапазоны данных и медианы находились в одном интервале баллов (рис. 1, а, 2, а). Через 12, 24 и 72 ч после моделирования патологии в группе контрольных животных отмечались вы-

сокие баллы неврологического дефицита по шкале McGraw, так как значения большинства животных находились в диапазоне от 7,5 до 9 баллов, что связано с возникновением у животных паралича конечностей и коматозного состояния (рис. 1, б, в, з). По шкале Combs у животных контрольной группы также отмечалось наличие выраженного моторного дефицита, так как медианы баллов в этой группе животных находились в диапазоне от 2 до 4 (рис. 2, б, в, з).

Введение исследуемых соединений приводило к снижению неврологического дефицита у животных, начиная с 12 ч от момента моделирования патологии. Однако среди всех групп, которым вводили МГОМК, только в группе животных, получавших 150 мг/кг,

балл неврологического дефицита по обеим шкалам статистически значимо отличался от контрольной группы животных на всех этапах наблюдения, начиная с 12 ч от момента окклюзии артерий.

При оценке неврологического дефицита по шкале McGraw на этапе 12 ч от момента перевязки артерий в группе животных, которым вводили МГОМК в дозе 150 мг/кг, отмечались более низкие баллы, интерквартильный размах которых находился в пределах от 5,0 до 6,0 (рис. 1, б). Данные статистически значимо отличались от показателей как контрольной группы, так и группы животных, которым вводили магния сульфат. Через 24 и 72 ч после моделирования ишемии в группе МГОМК в дозе 150 мг/кг было зафиксировано стати-

Таблица 4. Латентный период входа в темный отсек в УРПИ при обучении, через 72 ч и 7 дней после моделирования ОСА на фоне профилактического введения исследуемых соединений (с, $M \pm m$)

Группа	Обучение	Воспроизведение	
		через 72 ч	через 7 сут
ЛО	15,6 ± 1,1	180 ± 0	180 ± 0
Контроль ОСА	15,0 ± 1,4	64,3 ± 6,4	75,3 ± 10,1
МГОМК 100 мг/кг	14,5 ± 1,4	100,4 ± 17,7*	126,6 ± 21,9
МГОМК 150 мг/кг	16,9 ± 2,1	176,8 ± 3,2*^	162,0 ± 9,5*^
МГОМК 200 мг/кг	16,1 ± 1,9	124,3 ± 25,6*	147,3 ± 12,4*^
Магния сульфат 300 мг/кг	15,4 ± 1,2	94,0 ± 18,2	88,0 ± 9,1
Кавинтон 3,2 мг/кг	16,2 ± 1,3	135,3 ± 21,8*	140,4 ± 10,4*

Таблица 5. Латентный период решения экстраполяционной задачи в ТЭИ при обучении, через 72 ч и 7 дней после моделирования ОСА на фоне профилактического введения исследуемых соединений (с, $M \pm m$)

Группа	Обучение	Воспроизведение	
		через 72 ч	через 7 дней
ЛО	64,4 ± 4,9	12,2 ± 1,7*	49,4 ± 2,9
Контроль ОСА	52,8 ± 3,9	64,3 ± 6,4	123,0 ± 11,7
МГОМК 100 мг/кг	58,7 ± 3,1	25,4 ± 2,4*^	82,2 ± 6,9
МГОМК 150 мг/кг	60,3 ± 6,4	19,1 ± 1,3*^	43,0 ± 3,2*^
МГОМК 200 мг/кг	56,4 ± 2,3	21,2 ± 1,9*^	86,3 ± 5,8
Магния сульфат 300 мг/кг	56,4 ± 4,6	65,5 ± 2,6	71,0 ± 2,3
Кавинтон 3,2 мг/кг	52,9 ± 4,4	23,8 ± 2,5*^	48,1 ± 3,4*^

Таблица 6. Содержание воды в мозговой ткани животных после моделировании ОСА и на фоне профилактического введения исследуемых соединений (%), $M \pm m$)

Группа	Содержание воды в головном мозге, %	Δ% содержания воды по сравнению с группой контроль ОСА
ЛО	77,76 ± 0,09*	–
Контроль ОСА	79,97 ± 0,23	–
МГОМК 100 мг/кг	79,02 ± 0,33	– 1,18
МГОМК 150 мг/кг	78,18 ± 0,06*^&	– 2,24*^&
МГОМК 200 мг/кг	78,47 ± 0,14*^	– 1,80*^
Магния сульфат 300 мг/кг	79,40 ± 0,09	– 0,71
Кавинтон 3,2 мг/кг	79,45 ± 0,05	– 0,65

& Различия статистически значимы по сравнению с группой кавинтон 3,2 мг/кг (ранговый однофакторный анализ, критерий Крускала – Уоллиса, критерий Данна).

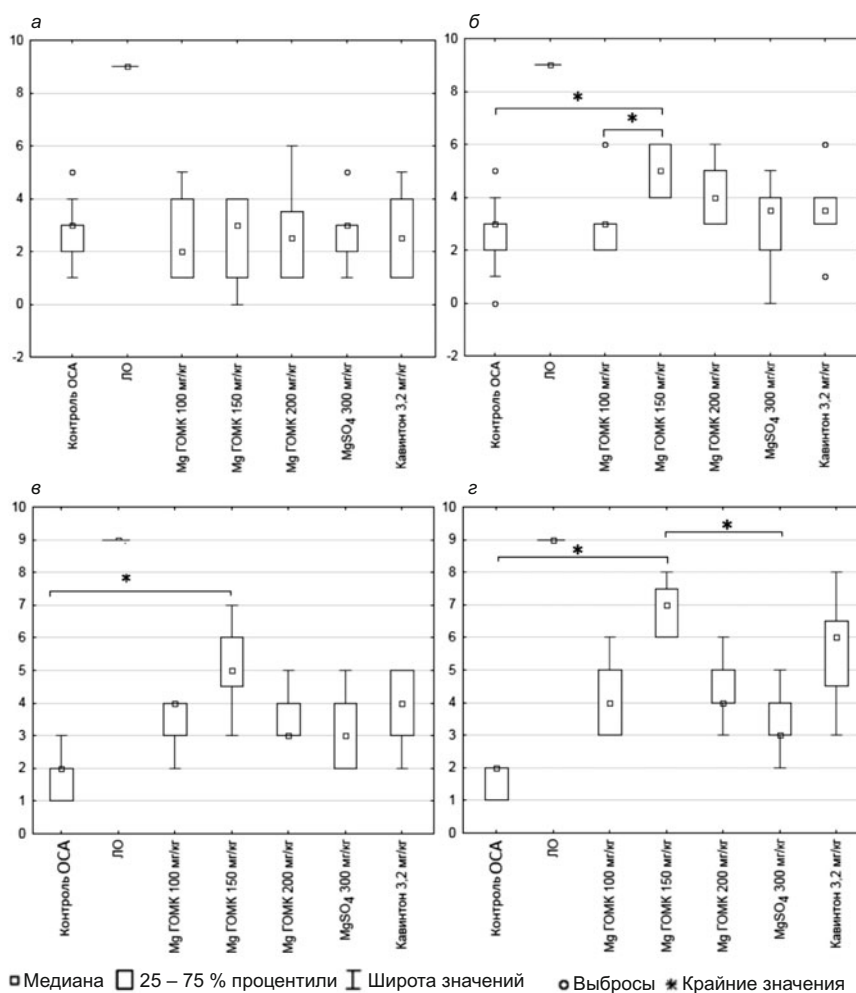


Рис. 2. Выраженность неврологического дефицита по шкале Combs у животных через 6 (а), 12 (б), 48 (в) и 72 ч (з) после моделирования ОСА и профилактического введения исследуемых соединений.

* Различия статистически значимы при $p \leq 0,05$, критерии Крускала – Уоллиса и Данна.

стически значимое снижение показателей относительно групп животных, которым вводили препарат в других дозах, а также магния сульфат (рис. 1, в, з).

При оценке неврологического дефицита по шкале Combs с 12 ч после моделирования ОСА в группе животных, которым вводили МГОМК в дозе 150 мг/кг, отмечались статистически значимо более высокие показатели, чем в других группах, что говорит о меньшей выраженности моторного дефицита (рис. 2, б). Так на этапах оценки в 12, 48 ч от моделирования ОСА в этой группе медиана баллов составила 5,0, а через 72 ч после моделирования – 7,0 баллов соответственно, что статистически значимо отличалось от показателей группы контроля и животных, получавших препараты сравнения (рис. 2, б, в, з).

Таким образом, более выраженными церебропротекторными свойствами при оценке неврологического дефицита обладает МГОМК в дозе 150 мг/кг.

Анализ поведенческих изменений и когнитивной функции после моделирования ишемического повреждения головного мозга у животных позволяет косвен-

но оценить наличие и выраженность церебропротекторного эффекта исследуемых соединений. Через 72 ч после моделирования патологии у животных контрольной группы отмечался выраженный поведенческий и когнитивный дефицит, что проявлялось в снижении двигательной и ориентировочно-исследовательской активности в тесте ОП, латентного периода входа в темный отсек в тесте УРПИ и повышении латентного периода решения экстраполяционной задачи в тесте ТЭИ (табл. 3 – 5).

В группах животных, профилактически получавших МГОМК в дозе 150 мг/кг и кавинтон, были зафиксированы статистически значимые более высокие показатели активности в тесте ОП по сравнению с контролем и животными, получавшими магния сульфат при $p \leq 0,05$.

При оценке мнестических функций у животных в группе, получавших МГОМК в дозе 150 мг/кг, было обнаружено статистически значимое снижение латентного периода входа в отсек в тесте УРПИ, а также уменьшение времени решения экстраполяционной за-

дачи в тесте ТЭИ через 72 ч и 7 сут после моделирования ишемии, по сравнению с группами контроль – ишемия и магния сульфат.

Воспроизведение билатеральной окклюзии ОСА у крыс приводило к формированию отека головного мозга, что выражалось в статистически значимом повышении содержания воды в тканях мозга у крыс контрольной группы на 2,8 %, ($79,97 \pm 0,23$)%, по сравнению с показателями группы ЛО животных (табл. 6).

Введение МГОМК в различных дозах и препаратов сравнения частично препятствовало развитию отека головного мозга животных. Однако наибольшее статистически значимое снижение содержания воды в церебральной ткани было отмечено в группе животных, получавших МГОМК в дозе 150 мг/кг при $p \leq 0,05$, по сравнению с группами магния сульфат, кавинтон и контроль – ишемия.

Таким образом, в результате исследования было показано, что церебропротекторная активность МГОМК имеет дозозависимый характер в диапазоне 100 – 200 мг/кг. Так, наибольшая активность была зафиксирована в группе животных, получавших МГОМК в дозе 150 мг/кг, причем выраженность этого эффекта была сопоставима с препаратом сравнения кавинтоном в дозе 3,2 мг/кг. Стоит отметить при этом, что, уже начиная с 12 ч после создания ишемии, профилактическое введение МГОМК в дозе 150 мг/кг приводило к выраженному снижению неврологического и моторного дефицита у крыс, что, возможно, говорит о раннем предотвращении развития патологических процессов в ткани мозга. Известно, что ионы магния обладают природным антагонизмом в отношении ионов кальция, играющих одну из важнейших ролей в формировании эксайтотоксического повреждения мозга. Помимо этого, МГОМК, в отличие от кавинтона, обладает выраженным противоотечным эффектом, что было показано в исследовании при оценке содержания воды в мозге после моделирования ишемии.

ВЫВОДЫ

1. Моделирование окклюзии ОСА у крыс приводило к летальности и развитию стойкого неврологического, моторного, поведенческого и когнитивного де-

фицитов, выраженного отека головного мозга у выживших животных.

2. Церебропротекторный эффект МГОМК носил дозозависимый характер, при этом более выраженное действие было выявлено при профилактическом введении его в дозе 150 мг/кг.

3. Профилактическое введение МГОМК в дозе 150 мг/кг на модели окклюзии ОСА у крыс приводило к снижению летальности по сравнению с контрольной группой в 9,3 раза ($p \leq 0,05$). Указанное действие было сопоставимо по выраженности с препаратом сравнения кавинтоном в дозе 3,2 мг/кг.

4. МГОМК в дозе 150 мг/кг оказывал статистически значимо более выраженное защитное действие в отношении развития неврологического, поведенческого, моторного, мнестического дефицита у крыс с окклюзией ОСА, по сравнению с магния сульфатом и кавинтоном ($p \leq 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

1. И. В. Ганнушкина, *Функциональная ангиоархитектоника головного мозга*, Медицина, Москва (1977)
2. С. Гланц, *Медико-биологическая статистика*, пер. с англ., Практика, Москва (1998).
3. М. А. Домашенко, М. А. Пирадов, Д. В. Сергеев и др., *Рос. мед. ж.*, № 22, 1609 – 1612 (2014).
4. О. В. Котова, *Рос. мед. ж.*, № 10, 514 – 517 (2012).
5. А. Н. Мамаев, *Основы медицинской статистики*, Практическая медицина, Москва (2011).
6. А. Н. Миронов, *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Часть первая, Гриф и К, Москва (2012).
7. И. Н. Тюренков, Е. В. Волотова, Д. В. Куркин и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **75**(4), 10 – 12 (2012).
8. И. Н. Тюренков, Д. В. Куркин, Е. В. Волотова и др., *Сиб. мед. ж. (Иркутск)*, **8**(115), 61 – 63 (2012).
9. В. И. Юнкеров, *Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований*, ВМедА, Санкт-Петербург (2011).
10. D. J. Combs, *Stroke*, № 2, 185 – 196 (1987).
11. T. Hayashi, *Springer*, № 4, 120 – 127 (2001).
12. J. Li, S. A. Strokes, A. Woeckener, *Ann. Emergency Med.*, **6**(31), 729 – 736 (2015)
13. N. Uysal, B. Baykara, M. Kiray, et al., *Turkish Neurosurgery*, **2**(23), 129 – 137 (2013).

Поступила 23.11.15

COMPARATIVE CEREBROPROTECTIVE EFFECT OF PREVENTIVE ADMINISTRATION OF MAGNESIUM HYDROXYBUTYRATE VERSUS MAGNESIUM SULFATE AND CAVINTON IN RATS WITH COMMON CAROTID ARTERY OCCLUSION

I. N. Tyurenkov, A. A. Litvinov, D. V. Kurkin, E. V. Volotova, A. P. Darmanyan, and A. A. Ozerov

Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov Ia, Volgograd, 400131 Russia

Dose-dependent cerebroprotective effect of magnesium hydroxybutyrate (MHB) on common carotid artery occlusion model in rats was established. Administration of 150 mg/kg MHB led to significant decrease in animal mortality (up to 9.3 times) in comparison to control ($p < 0.05$). This MHB dose also produced significant decrease of neurological deficit on the McGraw scale in comparison to control and magnesium sulfate (50% and 20%, respectively). The MHB treated animals also showed improved locomotor and exploratory performance in the open-field test and retained memory performance in the passive avoidance test and extrapolation escape task test. The administration of 150 mg/kg MHB produced three-fold ($p < 0.05$) decrease of brain edema in animals with cerebral blood flow impairment in comparison to animals treated with magnesium sulfate and cavinton.

Keywords: magnesium hydroxybutyrate; bilateral common artery occlusion; cerebroprotective effect; cerebral blood flow impairment.