

# НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-6-3-7

## ВЛИЯНИЕ ЭФИРА ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ 5-ГИДРОКСИАДАМАНТАН-2-ОНА НА СОСУДИСТЫЕ КОГНИТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ, ВЫЗВАННЫЕ ГЛОБАЛЬНОЙ ПРЕХОДЯЩЕЙ ИШЕМИЕЙ МОЗГА У КРЫС

Т. С. Ганьшина, Е. В. Курза, Е. В. Васильева, Р. М. Салимов, Г. И. Ковалев,  
Н. И. Авдюнина, Б. М. Пятин, Р. С. Мирзоян<sup>1</sup>

При моделировании глобальной преходящей ишемии и её модификации изучены мозговое кровообращение, ауторегуляция сосудов мозга и исследовательское поведение у крыс. Показано, что глобальная преходящая ишемия у животных под общей анестезией вызывает длительное (в течение 90 мин) параллельное снижение кровотока в коре большого мозга (46 – 38 %) и артериального давления (46 – 43%), которое свидетельствует о нарушении ауторегуляции мозгового кровообращения. В условиях гипоперфузии ткани мозга у крыс существенно (на 25 %) ухудшается исследовательско-ориентировочное поведение в тесте “Закрытый крестообразный лабиринт”, выражающееся в уменьшении числа полных обходов тупиков (PatrlN) относительно группы “Контроль”. Обнаружена способность эфира янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она (50 мг/кг в сутки в течение 7 дней) восстанавливать указанный показатель эффективности исследовательской активности PatrlN с 75 до 92 % относительно контроля, что указывает на его защитный эффект при сосудистых когнитивных нарушениях.

**Ключевые слова:** крысы; глобальная преходящая ишемия мозга; гипоперфузия мозга; ауторегуляция мозгового кровообращения; сосудистые когнитивные нарушения; тест “Закрытый крестообразный лабиринт”; эфир янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она.

### ВВЕДЕНИЕ

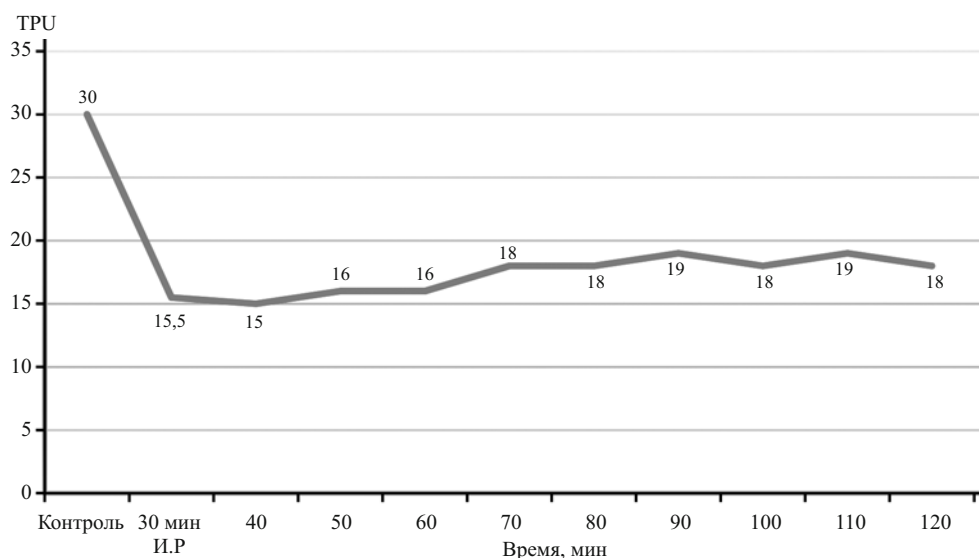
Известно, что сосудистые когнитивные нарушения занимают важное место в современной ангионеврологии, а гипоперфузия мозговой ткани является основным патофизиологическим механизмом снижения когнитивных функций и формирования дегенеративных процессов [7, 11, 14, 20, 24]. Для лечения сосудистой недостаточности применяется большое число лекарственных средств, относящихся к различным химическим классам и фармакологическим группам. Это препараты со следующими нейромедиаторными механизмами действия: холинергическим — холина альфосцерат, способствующий увеличению содержания ацетилхолина, и ингибиторы ацетилхолинэстеразы — донепезил и галантамин [7, 13, 24]; глутаматергическим — антагонист NMDA-рецепторов мемантин [24]; ГАМК-ергическим — метаболит прогестерона аллопрегнанолон и мексидол [2, 7, 17, 18, 20]; адренергическим и серотонинергическим —  $\alpha$ -адреноблокатор и антагонист серотонина ницерголин, а также пентоксифиллин [24]. Кроме того, применяют препараты, улучшающие мозговое кровообращение за счет блокады

медленных кальциевых каналов (нимодипин, циннаризин и флунаризин) [23, 24], ноотропные и другие средства — цитиколин, пирацетам, винпоцетин, кортексин, актовегин, церебролизин [7, 10, 19, 24]. При лечении пациентов с сосудистыми когнитивными нарушениями продемонстрирована эффективность комбинации нимодипина и холина альфосцерата. Сочетание цереброваскулярного и холинергического препаратов объясняют недостаточной эффективностью каждого из них в отдельности и полагают, что результаты этого исследования послужат методологической основой для последующих работ [22].

Множество лекарственных препаратов, используемых для лечения когнитивных расстройств, свидетельствует, с одной стороны, о сложном и до конца не разгаданном патогенезе этого недуга и, с другой, — о недостаточной эффективности этих средств. Поэтому проблему лечения сосудистых когнитивных нарушений нельзя считать окончательно решенной, а поиски новых препаратов требуется продолжить.

Для изыскания новых лекарственных средств необходимо использовать адекватные методы, способные по возможности уменьшить известный трансляционный разрыв между результатами, полученными в эксперименте, и когнитивными нарушениями сосудистого генеза в неврологической клинике. Следует при-

<sup>1</sup> ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова”, Россия, Москва.



**Рис. 1.** Изменения локального мозгового кровотока у наркотизированных крыс при глобальной преходящей ишемии.

По оси ординат — данные кровотока представлены в виде медианы в условных единицах (TRU); по оси абсцисс — время в минутах, 30 мин И/Р — 30 мин после ишемии и реперфузии.

знать, что в научных публикациях не представлены модели на животных, в полной мере отражающие сосудистые когнитивные нарушения в клинике. Следовательно, необходимо более тщательно проводить выбор методических подходов для экспериментального решения этой проблемы. В литературе при выборе модели ишемического поражения мозга предпочтение отдается моделям глобальной ишемии, при которых наблюдается наиболее значимая гипоперфузия мозга [14, 20].

В связи с этим наше внимание привлекла модель глобальной преходящей ишемии, при которой выявлены выраженные повреждения мембранных структур в наиболее чувствительных к ишемии областях мозга. Так, на данной модели ишемии в полосатом теле мозга крыс наблюдается повышение содержания глутамата и понижение уровня ГАМК [1], снижение активности каталазы и интенсивности свободно-радикального окисления [9], а также достоверное уменьшение содержания фактора роста нервов NGF в гиппокампе [5]. Глобальная преходящая ишемия вызывает также повышение уровня стресс-белка HSP70 в полосатом теле и гиппокампе [5].

Для оценки когнитивных расстройств у крыс был выбран поведенческий тест “Закрытый крестообразный лабиринт”.

В качестве средства для предотвращения когнитивных нарушений сосудистого генеза использовано новое потенциальное цереброваскулярное фармакологическое вещество — эфир янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-он, которое усиливает кровоснабжение ишемизированного мозга и, в отличие от нимодипина, не вызывает артериальной гипотензии [6].

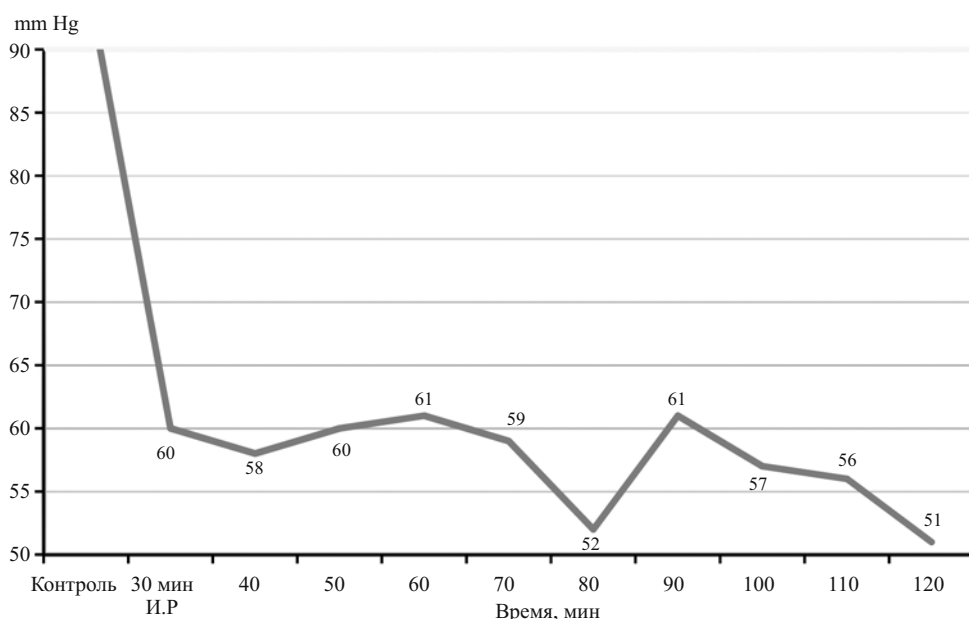
В связи с этим целью настоящего комплексного исследования является изучение мозгового кровообра-

щения и когнитивных функций в условиях глобальной преходящей ишемии, а также возможной эффективности эфира янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на 44 самцах белых аутбредных крыс массой 250 – 300 г (питомник “Столбовая”), которых содержали в виварии ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” в стандартных условиях со свободным доступом к воде и корму *ad libitum* в течение 1-й недели до начала эксперимента на стандартном корме при 12-часовом световом режиме. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 351.000.3-96 и 51000.4-96), Приказу Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н “Об утверждении Правил лабораторной практики”. Эксперименты проводили с 10.00 до 16.00 ч. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова”.

Для изучения влияния ишемии мозга на когнитивные функции использована модель глобальной преходящей ишемии головного мозга у крыс [3] и её модификация, адаптированная под возможность проведения экспериментов по изучению поведения и когнитивных функций животных в течение 7 и более дней. Глобальную преходящую ишемию у крыс вызывали окклюзией с помощью зажимов обеих общих сонных артерий в течение 10 мин. Одновременно методом кровопускания уменьшали уровень артериального давления до 40 – 50 мм рт. ст. Снижение артериального давления производили с целью нарушения кровообращения в вертебробазилярной системе, которая обес-



**Рис. 2.** Изменения артериального давления у наркотизированных крыс при глобальной преходящей ишемии мозга.

По оси ординат — данные артериального давления представлены в виде медианы в мм рт. ст. (mmHg); по оси абсцисс — время в минутах, 30 мин И/Р — 30 мин после ишемии и реперфузии.

печивает кровоснабжение жизненно важных центров, расположенных в стволовой области мозга. Спустя 10 мин удаляли зажимы и кровь реинфузировали. Затем перевязывали бедренную артерию и зашивали раневые поверхности на шее и в области паха.

Эксперименты по изучению влияния ишемии на когнитивные функции крыс в тесте “Закрытый крестообразный лабиринт” (ЗКЛ) проводили через неделю после оперативного вмешательства. В качестве контрольной группы использовали крыс неоперированных, т.е. без модели глобальной преходящей ишемии. В отдельной серии опытов оперированным крысам в течение недели ежедневно вводили внутривенно эфир янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она в дозе 50 мг/кг, первое введение соединения проводили через 30 мин после ишемии — реперфузии. Через 7 сут после применения эфира янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она оценивали поведение крыс в тесте ЗКЛ.

Тест ЗКЛ является неинвазивным и основан на врожденной способности каждого животного к различной степени эффективности исследовательского поведения в незнакомой обстановке, что исключает элемент обучаемости. Лабиринт состоит из 4 пластмассовых закрытых пустых отсеков, соединенных с центральным отсеком с помощью входных отверстий. Животное помещают в центральный отсек лабиринта и в полуавтоматическом режиме с помощью программы Behaviour регистрируют последовательность и продолжительность его переходов из одного рукава в другой. Последующий анализ данных позволяет оценить степень эффективности исследовательского поведения, в частности, число циклов патрулирования (PatrN), которое

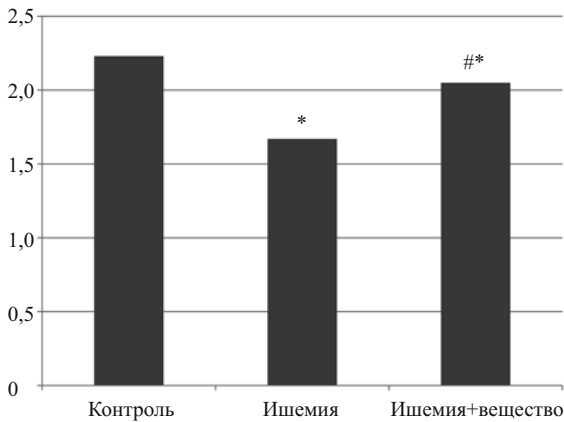
количественно отражает уровень ноотропной активности используемых веществ: чем больше циклов патрулирования, тем более “систематично” и более эффективно исследование лабиринта животным [8, 21, 22].

Крысы были разделены на 3 экспериментальные группы для изучения: 1 — локального мозгового кровотока и артериального давления у крыс в условиях глобальной преходящей ишемии под общей анестезией ( $n = 10$ ); 2 — когнитивных функций у крыс в условиях модифицированной модели глобальной преходящей ишемии ( $n = 15$ ); 3 — влияния эфира янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она (50 мг/кг в сутки) на когнитивные расстройства у крыс, вызванные ишемией мозга ( $n = 19$ ).

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с помощью программы Statistica 8,0 (StatSoft, США). Полученные данные представлены в виде медианы (значимость по методу Вилкоксона) и средних значений с учетом стандартной ошибки среднего ( $\text{mean} \pm \text{S.E.M}$ , значимость по  $t$ -тесту Стьюдента).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии опытов исследовали влияние глобальной преходящей ишемии на локальный кровоток в коре большого мозга и артериальное давление у наркотизированных крыс (хлоралгидрат 350 мг/кг внутривенно). Проведенные опыты показали, что через 30–40 мин после ишемии с последующей реперфузией наблюдается снижение кровотока в среднем на 46 % (10 мин) и 38 % (90 мин) от исходного уровня ( $p \leq 0,05$ ). Артериальное давление в этих условиях



**Рис. 3.** Изменения эффективности исследовательского поведения в тесте ЗКЛ под влиянием глобальной преходящей ишемии и эфира янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она (Вещество) в условиях ишемии мозга.

По оси ординат — количество полных обходов боковых отсеков лабиринта (PatrlN); по оси абсцисс — экспериментальные группы животных. \*/# достоверность отличия от Контроля/Ишемии (*t*-тест Стьюдента,  $p < 0,05$ ).

также уменьшается в среднем на 46 и 43 % по отношению к контролю ( $p \leq 0,05$ ). Показатели кровотока и артериального давления остаются сниженными до конца эксперимента — 60 – 90 мин (рис. 1 и 2). Следовательно, имеет место значительное и длительное снижение кровотока в коре большого мозга с одновременной гипотензией, которое не претерпевает существенных изменений после восстановления кровообращения и объема крови в ткани мозга. Как видно из рисунков, параллельные колебания мозгового кровотока и артериального давления свидетельствуют о выраженной длительной гипоперфузии ткани мозга и нарушении ауторегуляции мозгового кровообращения.

Аналогичные изменения наблюдались и в условиях перманентной локальной ишемии мозга, вызванной перевязкой средней мозговой артерии у крыс, когда норадреналин при внутривенном введении до ишемии вызывал резкое уменьшение кровотока, сопровождаемое артериальной гипертензией (разнонаправленные изменения), тогда как после ишемии изменения кровотока и артериального давления были однонаправленными, т.е. кровоток следовал за изменениями перфузионного давления [4]. Таким образом, и глобальная преходящая ишемия и перманентная локальная ишемия вызывают сходные изменения — срыв ауторегуляции мозгового кровообращения, которая играет ключевую роль в регуляции тонуса сосудов мозга и обеспечении кровоснабжения и функционировании неповрежденного мозга [11].

Последующие 2 серии опытов посвящены изучению когнитивных функций в условиях ишемического поражения мозга животных в контроле и под влиянием эфира янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она в дозе 50 мг/кг при внутрибрюшинном вве-

дении 1 раз в сутки, начиная с 30 мин после ишемии в течение 7 дней.

Выбор для исследования эфира янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она обусловлен полученными нами ранее данными о способности этого соединения усиливать кровоснабжение ишемизированного мозга. Так, это соединение в дозе 100 мг/кг в условиях глобальной преходящей ишемии мозга у наркотизированных крыс через 10 мин после введения вызывает увеличение кровотока в коре мозга к 10 мин в среднем на 25 %, а к 80 мин — на 59,3 %. Уровень артериального давления в этих опытах сразу после введения повышается, затем начинает снижаться и к 40 мин восстанавливается до исходного значения. Анализ цереброваскулярного эффекта эфира янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она с помощью бикакуллина выявил участие в этом процессе ГАМК-ергического компонента, что позволяет отнести его к ГАМК-позитивным цереброваскулярным соединениям [6].

После тестирования в ЗКЛ и последующей статистической обработки были получены данные, представленные на рис. 3. Под влиянием гипоперфузии ткани мозга существенно (на 25 %) ухудшается ориентация крыс в лабиринте, что следует из уменьшения числа полных обходов тупиков (PatrlN) относительно группы “Контроль” с  $(2,23 \pm 0,12)$  до  $(1,67 \pm 0,19)$  (*t*-тест Стьюдента,  $p < 0,05$ ). Эфир янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она при 7-кратном введении исследуемого вещества после ишемии восстанавливает указанный показатель PatrlN до уровня 92 % к контролю — до  $(2,05 \pm 0,05)$  (*t*-тест Стьюдента,  $p < 0,05$ ).

Таким образом, проведенное исследование продемонстрировало существенное защитное влияние эфира янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она на когнитивные расстройства сосудистого генеза у крыс. По-видимому, эфир янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она препятствует развитию поврежденных мембранных структур в наиболее чувствительных к ишемии областях мозга, которые поражаются при данной модели ишемии [1, 5, 9]. Известно, что в условиях перманентной двусторонней окклюзии общих сонных артерий когнитивный дефицит обусловлен, в частности, поражением области СА1 гиппокампа [12, 14, 15, 16, 25].

В связи с тем, что эфир янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она оказывает влияние на когнитивные расстройства и обладает ГАМК-ергическим механизмом действия, можно допустить участие указанных процессов и в его защитном эффекте при нарушении памяти. Общепринято, что препараты с ГАМК-ергическим механизмом действия применяются при лечении пациентов с когнитивными расстройствами [7, 17, 18, 20], а указанные процессы участвуют в реализации противоишемической активности целого ряда фармакологических веществ [2].



## ВЫВОДЫ

1. Глобальная преходящая ишемия вызывает длительное (в течение 90 мин) параллельное снижение кровотока в коре большого мозга (46 – 38 %) и артериального давления (46 – 43 %), что свидетельствует о выраженной гипоперфузии ткани мозга и нарушении ауторегуляции мозгового кровообращения.

2. Гипоперфузия ткани мозга при глобальной преходящей ишемии существенно (на 25 %) ухудшает эффективность исследовательского поведения в тесте ЗКЛ, что следует из уменьшения числа полных обходов тупиков (PatrIN) относительно группы “контроль”.

3. Выявлен защитный эффект эфира янтарной кислоты 5-гидроксиадамantan-2-она, который при ежедневном введении по 50 мг/кг в течение недели восстанавливает указанный показатель PatrIN до 92 % к контролю.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. С. Байкова, И. А. Кадников, М. В. Воронин и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **151**(5), 526 – 531 (2011).
2. Р. С. Мирзоян, Т. С. Ганьшина, Г. А. Ким и др., *Анналы клин. и эксперим. неврол.*, **13**(3), 34 – 40 (2019); doi:10.25692/ACEN.2019.3.5.
3. Р. С. Мирзоян, М. Б. Плотников, Т. С. Ганьшина и др., *Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств для лечения нарушений мозгового кровообращения и мигрени. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Часть первая, Гриф и К, Москва (2012), сс. 480 – 487.
4. Р. С. Мирзоян, А. В. Топчян, М. И. Тимкина, М. Г. Баласанян, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **62**(5), 11 – 14 (1999).
5. И. Н. Курдюмов, *Автореф. дис. канд. биол. наук*, Москва (2009).
6. Е. В. Курза, Н. И. Авдюнина, Т. С. Ганьшина и др., *Хим.-фарм. журн.*, **52**(2), 3 – 7 (2018); doi: 10.30906/0023-1134-2018-52-2-3-7.
7. М. А. Пирадов, М. М. Танашян, М. А. Домашенко, М. Ю. Максимова, *Анналы клин. и эксперим. неврол.*, **9**(3), 10 – 19 (2015).

8. Р. М. Салимов, *Ж. высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*, **38**(3), 569 – 571 (1988).
9. И. В. Силкина, Т. А. Зенина, С. Б. Середенин и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **69**(4), 47 – 50 (2006).
10. М. М. Танашян, Р. Н. Коновалов, О. В. Лагода, *Анналы клин. и эксперим. неврол.*, **12**(3), 30 – 39 (2018).
11. J. C. de la Torre, *Corporation Cardiovascular Psychiatry and Neurology*, ID 367516, 15 (2012); doi:10.1155/2012/367516.
12. J. C. de la Torre, T. Fortin, G. A. Park, et al., *Brain Res.*, **623**(1), 6 – 15 (1993); doi: 10.1016/0006-8993(93)90003-6.
13. M. Dichgans, H. S. Markus, S. Salloway, et al., *Lancet Neurol.*, **7**(4), 310 – 318 (2008); doi: 10.1016/S1474-4422(08)70046-2.
14. J. Duncombe, A. Kitamura, Y. Hase, et al., *Clin. Sci.*, **131**(19), 2451 – 2468 (2017); doi: 10.1042/CS20160727.
15. E. Farkas, P. G. Luiten, F. Bari, *Brain Res. Rev.*, **54**(1), 162 – 180 (2007); doi: 10.1016/j.brainresrev.2007.01.003.
16. A. Horstmann, S. Frisch, R. T. Jentzsch, et al., *Neurology*, **74**(4), 306 – 312 (2010); doi: 10.1212/WNL.0b013e3181cbcd6f.
17. S. R. Knight, C. Davidson, A. M. Young, C. L. Gibson, *J. Neuroendocrinol.*, **24**(8), 1135 – 1143 (2012); doi: 10.1111/j.1365-2826.2012.02319.x.
18. R. J. Lee, J. K. Kim, D. Chao, L. Kuo, et al., *J. Neurochem.*, **132**(1), 32 – 37 (2014); doi: 10.1111/jnc.12990.
19. A. Marchegiani, F. Nicoletti, M. R. Romano, et al., *J. Biomed. Sci. Engineering*, **12**(7), 368 – 376 (2019); doi.org/10.4236/jbise.2019.127028.
20. J. T. Neumann, C. H. Cohan, K. R. Dave, et al., *Cur. Drug Targets*, **14**(1), 20 – 35(2013); doi:10.2174/138945013804806514.
21. R. M. Salimov, *Alcohol*, **17**, 157 – 162 (1999).
22. R. M. Salimov, N. V. Markina, O. V. Perepelkina, et al., *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **28**(3), 583 – 589 (2004).
23. E. Salvadori, A. Poggesi, I. Donnini, et al., *Aging Clin. Exp. Res.*, **32**(3), 449 – 457 (2020); doi: 10.1007/s40520-019-01229-z.
24. E. E. Smith, A. Cieslak, P. Barber, et al., *J. Am. Heart. Assoc.*, **6** (5), e005568 (2017); doi: 10.1161/JAHA.117.005568.
25. G. Wei, K. K. Kibler, R. C. Koehler, T. Maruyama, *Neuroscience*, **156**(4), 1111 – 1117 (2008); doi:10.1016/j.neuroscience.2008.07.073.

Поступила 21.05.20

## EFFECT OF 5-HYDROXYADAMANTAN-2-ONE SUCCINIC ACID ESTER ON VASCULAR COGNITIVE DISORDERS CAUSED BY GLOBAL TRANSIENT BRAIN ISCHEMIA IN RATS

T. S. Gan'shina, E. V. Kurza, E. V. Vasil'eva, R. M. Salimov, G. I. Kovalev, N. I. Avdyunina, B. M. Pyatin, and R. S. Mirzoyan

V. V. Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315 Russia

Using the global transient ischemia model and its modifications, the cerebral circulation, autoregulation of cerebral vessels, and research behavior in rats were studied. It is established that global transient ischemia in animals under general anesthesia causes prolonged (within 90 min) parallel decrease in blood flow in the cerebral cortex (by 46 – 38%) in and blood pressure (by 46 – 43%), which is indicative of a disturbance of the cerebral blood flow autoregulation. Under conditions of cerebral hypoperfusion in rat brain tissues, their exploratory behavior in the closed cross maze test worsens significantly, as evidenced by a decrease (25%) in the total number of patrolling episodes made by animal during the session (PatrIN) as compared to that in the control group. The ability of 5-hydroxyadamantan-2-one succinic acid ester (50 mg/kg per day for 7 days) was found to restore the indicated parameter value up to 92% of control, indicating protective effect in animals with model vascular cognitive impairment.

**Keywords:** rats; global transient brain ischemia; autoregulation of cerebral circulation; brain hypoperfusion; vascular cognitive impairment; closed cross maze test; 5-hydroxyadamantan-2-one succinic acid ester.