

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ФЕНОТРОПИЛА И ПИРАЦЕТАМА В УСЛОВИЯХ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

И. Н. Тюренков, М. Н. Багметов, В. В. Епишина¹

На белых крысах-самцах линии Вистар выполнено сравнительное изучение нейропротекторной активности фенотропила и пирацетама при ишемии головного мозга у высоко- и низкочувствительных к ишемическому повреждению крыс на моделях двусторонней необратимой одномоментной окклюзии общих сонных артерий и гравитационной перегрузки в кранио-каудальном векторе. Исследовано также влияние препаратов на состояние микроциркуляции в коре большого мозга в условиях ишемического повреждения. Фенотропил и в меньшей степени пирацетам уменьшают тяжесть нарастания неврологического дефицита, способствуют сохранению локомоторной, исследовательской и мнестической функции у животных, подвергшихся гравитационной ишемии головного мозга, увеличивают выживаемость животных и способствуют восстановлению локального мозгового кровотока в условиях окклюзии общих сонных артерий.

Ключевые слова: ишемия головного мозга, высокочувствительные и низкочувствительные к ишемии крысы, фенотропил, пирацетам, окклюзия общих сонных артерий, гравитационная ишемия

ВВЕДЕНИЕ

Ишемический инсульт, как наиболее тяжелая форма цереброваскулярных заболеваний, остается важнейшей общемедицинской проблемой. Цели фармакологической коррекции повреждения центральной нервной системы при ишемической патологии заключаются в предупреждении развития ишемического каскада, реперфузионного синдрома и скорейшем восстановлении неврологического статуса [6]. Для коррекции ишемических состояний головного мозга применяют широкий спектр лекарственных средств, в том числе и ноотропы, оказывающие церебропротекторное действие при различных повреждающих воздействиях на мозг [8, 9, 13]. Однако их эффективность не в полной мере удовлетворяет требованиям клиники, что вынуждает искать новые патогенетически обоснованные фармакотерапевтические методы коррекции этих патологических состояний [10, 11]. В настоящем исследовании проведен сравнительный анализ нейропротекторного действия фенотропила и пирацетама в условиях экспериментальной ишемии головного мозга у лабораторных животных.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на крысах-самцах линии Вистар, массой 200–220 г. Все животные содержались в условиях вивария на стандартном пищевом рационе с естественным 12-часовым свето-темновым режимом. Известно, что даже среди линейных животных часто встречаются внутривидовые различия параметров церебрального кровотока, которые при использовании экспериментальных моделей ишемии предугадать практически невозможно [3, 5]. Это обуславливает необходимость предварительной рандомизации животных по степени чувствительности к ишемическому поражению. Показано, что высокоактивные (ВА) в поведенческих тестах животные менее чувствительны к ишемическому повреждению, чем низкоактивные (НА) [3]. В опыт были отобраны животные с активной и пассивной стратегией поведения по результатам теста “эмоциональный резонанс” [7], крысы с амбивалентными признаками из опыта исключались. Глобальная ишемия, вызываемая гравитационной перегрузкой в кранио-каудальном векторе, воспроизводилась с помощью специально разработанной центрифуги [4, 5]. Оценку неврологического дефицита проводили с использованием модифицированной балльной шкалы McGrow. Отмечалось количество крыс с легкой (от 0,5 до 2,5), средней (от 2,5 до 5,5) и тяжелой (от 5,5 до 12 баллов) неврологической симптоматикой. При наличии у животных нескольких симптомов неврологического дефицита баллы суммировались. Животных

¹ Кафедра фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей (зав. — проф. И. Н. Тюренков) Волгоградского государственного медицинского университета, Волгоград, 400131, пл. Павших борцов, 1.

помещали в пластиковые домики-пеналы и подвергали вращению в горизонтальной плоскости в течение 5 мин с величинами перегрузок от 4 до 12 g. Минимальная величина перегрузок была подобрана с учетом литературных данных, указывающих, что при данной перегрузке давление в каротидном бассейне падает до нулевого уровня, что ведет к запуску ишемических процессов в головном мозге [14 – 16], максимальная — величина, при которой наблюдается гибель 50 % высокочувствительных к ишемии животных. Противоишемическая активность фенотропила и пираретама при их курсовом профилактическом введении изучалась на низкоустойчивых к ишемии крысах с пассивным типом поведения. Для этого была выбрана перегрузка, на которой у животных развивался неврологический дефицит высокой степени с единичными случаями гибели, что, вероятно, соответствует появлению органических изменений в ткани мозга. Животные опытных и контрольной групп подвергались указанной перегрузке с последующей оценкой когнитивной и мнестической функций в стандартных психоневрологических тестах: “условная реакция пассивного избегания” (УРПИ), “тест экстраполяционно-го избавления” (ТЭИ), “открытое поле” (ОП) [2].

Проведены также две серии экспериментов по изучению влияния фенотропила и пираретама при их курсовом введении на выживаемость животных. В первой серии экспериментов животным под эфирным наркозом была осуществлена одномоментная перевязка общих сонных артерий (ОСА) с обеих сторон [12]. После этого рану ушивали, и проводили регистрацию количества выживших животных через 3, 12, 24, 48 и 72 ч после операции. Вторым этапом исследования стало изучение влияния курсового профилактического введения препаратов на выживаемость животных с использованием модели гравитационной ишемии, вызванной радиальными ускорениями в краниокаудальном векторе. Данная модель позволяет исключить такие негативные факторы, как влияние наркоза, травматичность и инвазивность операционной методики, а также оценить влияние веществ на период постишемической реперфузии [4, 5]. Для воспроизведения гравитационной ишемии была подобрана перегрузка, вызывающая гибель 50 % животных контрольной группы [5] высокочувствительных к ишемии. Следующий этап исследования состоял в анализе влияния однократного внутривенного введения фенотропила и пираретама на параметры локального мозгового кровотока животных до и после окклюзии общих сонных артерий при помощи ультразвуковой доплерографии. Регистрацию параметров мозгового кровотока (МК) проводили в теменной области головного мозга крыс [1], наркотизированных этаминал-натрием (40 мг/кг) с помощью ультразвукового доплерографа для исследования кровотока ММ-Д-К производства компании “Минимакс” (Санкт-Петербург, Россия). Голову животного закрепляли в стереотаксическом приборе и

для регистрации кровотока в теменной кости бором просверливали отверстие диаметром 0,3 см до поверхности твердой мозговой оболочки, которая сохранялась интактной. Датчик доплерографа УЗДП-010 – 01с рабочей частотой 25 МГц, диаметром 0,3 см устанавливали на расстоянии 6 – 7 см дистальнее основания среднемозговой артерии. Для достижения контролируемой гипотензии (50 мм рт. ст.) и введения препарата бедренные вену и артерию отпрепаровывали и канюлизировали силиконовыми катетерами. Катетер вводили в бедренную артерию до уровня наружной подвздошной артерии. Препараты вводили в дозах: фенотропил — 25 мг/кг, пираретам — 400 мг/кг, что составляет 1/30 LD₅₀. Контрольные животные получали физиологический раствор в эквивалентном объеме. При изучении влияния на неврологический статус, когнитивные и мнестические функции, а также выживаемость животных соединения вводили интраперитонеально один раз в сутки в течение 10 дней и за 30 мин до момента моделирования ишемического повреждения. При оценке влияния веществ на мозговой кровоток введение их осуществляли однократно в бедренную вену за 30 мин до перевязки сонных артерий. Результаты статистически обрабатывали с помощью программ STATISTIKA 5,0 и Biostat с использованием *t*-критерия Стьюдента, непараметрического U-критерия Манна-Уитни, точного критерия Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На начальном этапе исследования было изучено влияние нарастающих гравитационных перегрузок на неврологический статус высоко- (ВА) и низкоактивных (НА) животных. На основании полученных данных были построены две кривые неврологического дефицита (рис. 1).

Признаки неврологического дефицита легкой степени при ускорении в 4 g отмечали как у ВА, так и у НА животных, что подтверждает имеющиеся в литературе данные [5]. При увеличении радиальных ускорений неврологический дефицит средней степени тяжести возникал у НА животных на ускорении в 5 g, у ВА крыс подобная неврологическая симптоматика наблюдалась при 6-кратном ускорении. Однако в течение 30 мин после нанесения повреждающего фактора у животных обеих групп признаки неврологического дефицита полностью исчезали, поведение животных становилось адекватным, отмечался продолжительный груминг, трактуемый как поведение комфорта. На основании этого можно предположить, что центрифугирование с ускорением в 6 g не вызывает тотальной (глубокой) ишемии мозга, а является также описанным в литературе [16] комбинированным стрессом, обусловленным сочетанием действия иммобилизационного, эмоционального и вестибулярного стрессогенных факторов. Таким образом, 5-минутное центрифугирование как ВА, так и НА животных с ускорением в

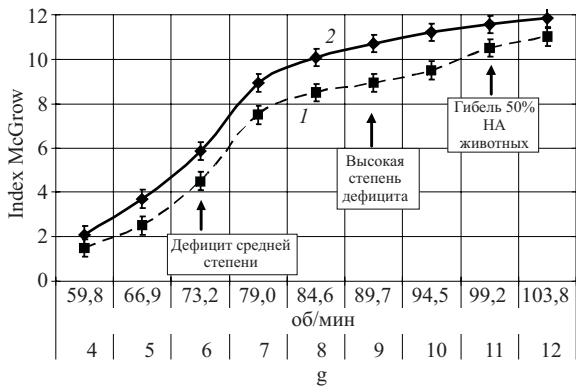


Рис. 1. Влияния нарастающих перегрузок в кранио-каудальном векторе на степень неврологического дефицита высокоактивных (ВА, 1) и низкоактивных (НА, 2) животных.

6 g может использоваться в качестве скрининговой модели для поиска веществ — стресспротекторов.

При дальнейшем увеличении радиального ускорения до 9 g отмечалось наличие неврологического дефицита высокой степени у животных обоих типов, что проявлялось полной дезориентацией животных в пространстве, кратковременной утратой рефлекса переворачивания, одно- и двусторонними птозами, манежными движениями, парезами задних и передних конечностей. В группе НА животных 20 % крыс погибло. Видимая неврологическая симптоматика у оставшихся животных обоих типов нивелировалась через 3,5 – 4 ч после центрифугирования, что дало возможность провести тестирование этих животных в стандартных психофармакологических тестах.

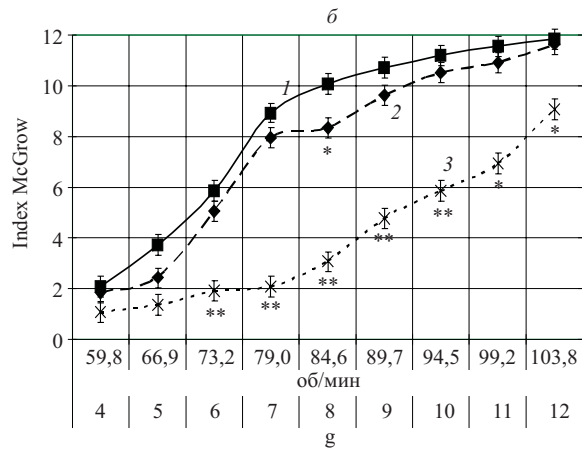
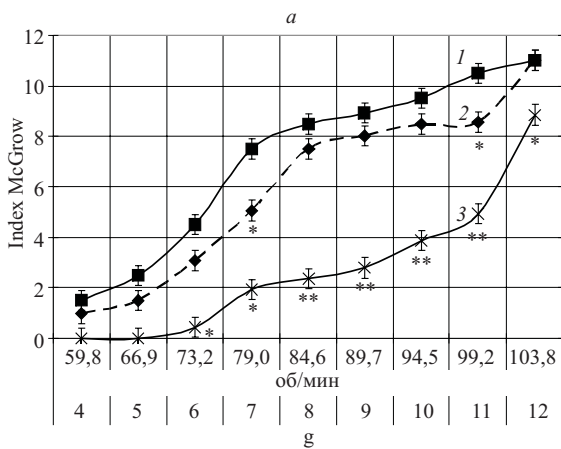


Рис. 2. Влияние курсового введения фенотропила и пирацетама на степень неврологического дефицита у ВА (а) и НА (б) животных в условиях нарастающих гравитационных перегрузок в кранио-каудальном векторе.

1 — контроль; 2 — пирацетам; 3 — фенотропил. Здесь и на рис. 3 — 5 различия достоверны по отношению к показателям контрольной группы животных при: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

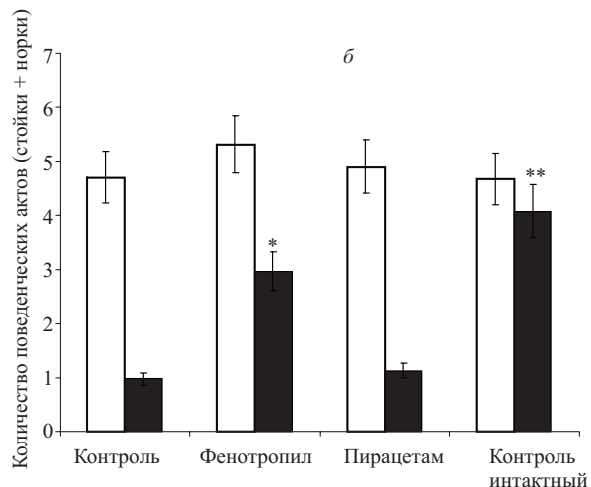
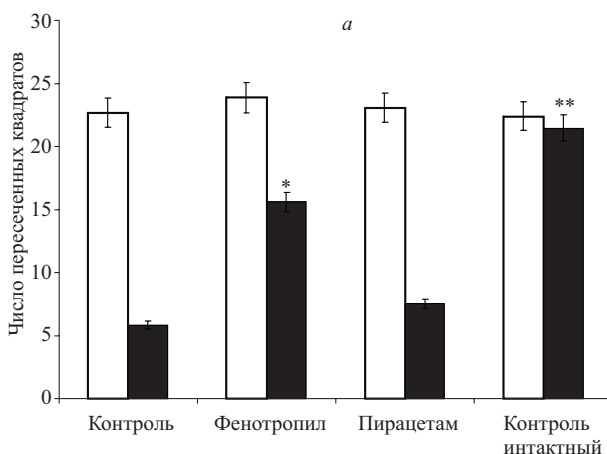


Рис. 3. Влияние курсового введения фенотропила и пирацетама на спонтанную двигательную активность (а) и ориентировочно-исследовательскую активность (б) ишемизированных НА крыс в тесте “открытое поле”.

Светлые столбики — до ишемии, темные — после ишемии. Остальные обозначения те же, что на рис. 2.

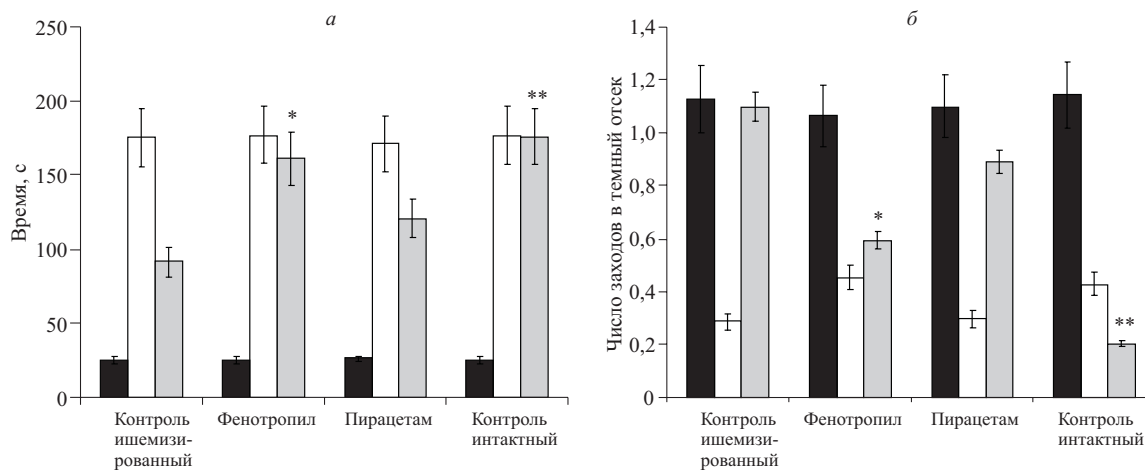


Рис. 4. Влияние курсового введения фенотропила и пирацетама на латентный период первого захода в темный отсек (*a*) и количество заходов в него у ишемизированных НА крыс в тесте УРПИ.

Темные столбики — латентный период при обучении; светлые — латентный период при воспроизведении навыка; серые — латентный период после ишемии. Остальные обозначения те же, что на рис. 2.

При дальнейшем увеличении ускорения до 12 g в группе НА животных наблюдалась гибель 50 % крыс, а у ВА — 20 %. Это дает возможность использования данной перегрузки для изучения влияния тестируемых соединений на выживаемость высокочувствительных к ишемии головного мозга крыс.

Курсовое профилактическое введение фенотропила и пирацетама оказало влияние на кривую нарастания неврологического дефицита как у активных (ВА), так и пассивных (НА) крыс (рис 2, *a* и *б*). Так, у НА животных, получавших курсом фенотропил, высокая степень неврологического дефицита наступала только при ускорении в 9 g, причем введение фенотропила в некоторой степени нивелировало разницу в неврологическом статусе между высоко- и низкочувствительными к ишемическому поражению. Пирацетам при тестировании также сглаживал степень нарастания неврологического дефицита у животных, но активность его была значительно ниже, чем у фенотропила.

Далее проведена оценка влияния 5-минутных 9-кратных перегрузок на параметры поведенческой активности у низкоактивных животных с использованием стандартных психофармакологических тестов. После 5-минутной 9-кратной перегрузки при анализе поведения в «открытом поле» отмечалось значительное снижение двигательной (рис. 3, *a*) и исследовательской активности (рис. 3, *б*) у животных всех групп.

Однако у животных, получавших фенотропил курсом, степень снижения указанных показателей была достоверно ниже, чем у животных контрольной группы. Пирацетам не проявил активности в данном тесте.

Фенотропил способствовал сохранению памятного следа у животных после центрифугирования в тесте УРПИ, что проявлялось в более длительном латентном периоде первого захода в темный отсек (рис 4, *a*) при воспроизведении навыка и снижении количества

заходов в него (рис 4, *б*) по отношению к показателям животных контрольной группы. Пирацетам по этим параметрам оказывал существенно менее выраженное церебропротекторное действие в данном тесте, чем фенотропил.

После операции по одномоментной перевязке общих сонных артерий в группе НА животных гибель начинала регистрироваться уже в ходе первого часа после операции, достигнув 50 % к 12-му часу постокклюзионного периода (табл. 1.)

Через 72 ч все животные погибли. В группе высокоактивных крыс к 24-му часу постокклюзионного периода погибло 50 % животных. На третьи сутки погибло 70 % животных. Курсовое введение пирацетама и фенотропила увеличивало процент выживаемости как у высоко-, так и у низкоактивных крыс, при этом различия в выживаемости активных и пассивных животных уменьшались. В группе, получавшей фенотропил, среди ВА животных к концу наблюдения выжило 80 % крыс. В течение 48 ч постишемического периода процент выживаемости в группе пирацетама существенно

Таблица 1. Влияние курсового профилактического введения фенотропила и пирацетама на выживаемость высокоактивных (ВА) и низкоактивных (НА) лабораторных животных в условиях необратимой окклюзии общих сонных артерий с обеих сторон

Группа		Количество выживших животных, %				
		3 ч	12 ч	24 ч	48 ч	72 ч
Контроль	НА	70	50	30	10	0
	ВА	90	80	50	40	30
Пирацетам	НА	70	60	30	30	30
	ВА	90	80	60	50	50
Фенотропил	НА	80	70	60	60	60*
	ВА	100	100	100*	90	80

* данные статистически значимы (метод Фишера) по отношению к контролю при $p \leq 0,05$.

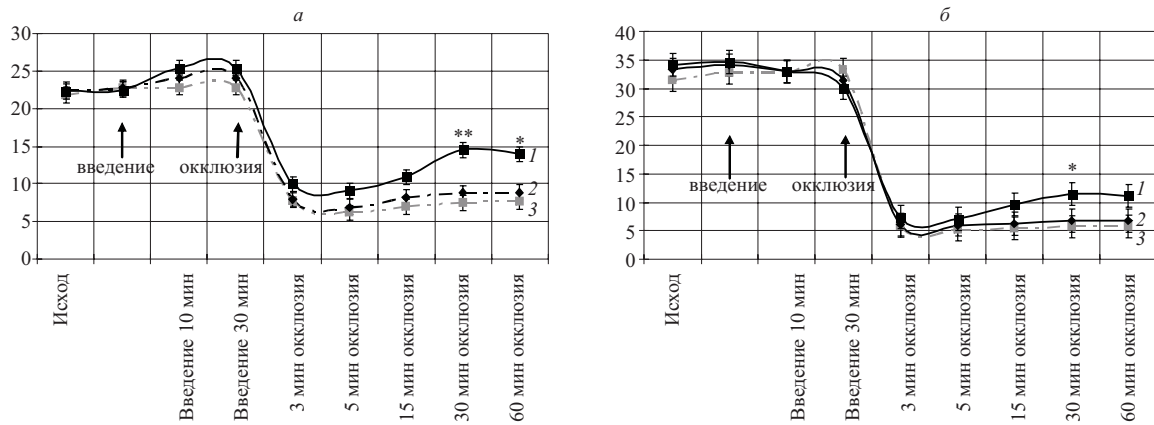


Рис. 5. Влияние однократного внутривенного введения фенотропила и пирацетама на локальный мозговой кровоток ВА (а) и НА (б) животных при двусторонней необратимой окклюзии сонных артерий.

Обозначения те же, что на рис. 2.

не отличался от показателя контрольной группы, однако в дальнейшем гибель животных не отмечалась и к моменту окончания времени наблюдения выжило 50 % крыс.

Среди НА животных курсовое введение фенотропила обеспечивало выживаемость 60 % животных, в группе, получавшей пирацетам, выжило 30 % крыс.

При изучении выживаемости на обеих использованных моделях у животных контрольной группы отмечена более высокая выживаемость поведенчески активных особей в сравнении с пассивными. Наименьший процент гибели через 72 ч после гравитационной ишемии наблюдался в группе животных, получавших фенотропил (табл. 2).

В данной серии экспериментов наибольшую активность проявил фенотропил, курсовое введение которого способствовало выживаемости 70 % ВА и 60 % НА животных.

При регистрации локального мозгового кровотока было отмечено, что НА в поведенческих тестах животные имеют более высокие изначальные показатели мозгового кровотока, чем ВА.

При снижении артериального давления и пережатии общих сонных артерий локальный мозговой кро-

воток у НА животных снижался значительно, чем у ВА, что, вероятно, влечет за собой и более тяжелое повреждение мозга в период ишемии. В данном эксперименте в течение 60 мин наблюдения за параметрами локального мозгового кровотока после окклюзии каротид погибло 10 % низкоактивных крыс (рис. 5, б).

Показатели исходного уровня мозгового кровотока у НА животных были выше ($31,8 \pm 0,8$ усл. ед.), чем у ВА ($22,1 \pm 0,1$ усл. ед.), что подтверждает имеющиеся литературные данные. После окклюзии и снижения уровня артериального давления до 45–50 мм рт. ст. уровень локального мозгового кровотока у животных с низкой чувствительностью к ишемии снизился более чем в 3 раза, у высокочувствительных — в 5 раз, при этом наблюдалась гибель 10 % животных на 15–20 мин постокклюзионного периода. Введение фенотропила и пирацетама не предупреждало снижение показателей МК в первые 10 мин после пережатия, однако через 20–60 мин после окклюзии фенотропил и в меньшей степени пирацетам способствовали восстановлению показателей мозгового кровотока как у низко-, так и высокочувствительных (рис 5, а, б) к ишемии головного мозга животных. Введение фенотропила предотвращало гибель низкоактивных животных в постокклюзионном периоде.

ВЫВОДЫ

1. Продольные гравитационные перегрузки в краниокаудальном векторе вызывают ишемические повреждения ЦНС, тяжесть и характер которых зависят от величины перегрузки. Животные с активной формой поведения менее чувствительны к радиальным ускорениям, чем низкоактивные.

2. Перегрузки различной величины могут использоваться для фармакологического скрининга стресспротекторного, нейропротекторного и противоишемического действия соединений.

Таблица 2. Влияние курсового профилактического введения фенотропила и пирацетама на выживаемость высокоактивных (ВА) и низкоактивных (НА) лабораторных животных в условиях 12-кратной гравитационной перегрузки в кранио-каудальном векторе

Группа		Количество выживших животных, %				
		3 ч	12 ч	24 ч	48 ч	72 ч
Контроль	НА	50	50	50	50	40
	ВА	80	80	80	70	60
Пирацетам	НА	60	60	60	60	50
	ВА	80	80	80	80	60
Фенотропил	НА	70	70	70	60	60
	ВА	90	90	80	80	70

3. Фенотропил и, в меньшей степени, пирацетам уменьшают тяжесть нарастания неврологического дефицита при повреждении ЦНС, вызванном гравитационной перегрузкой, способствуют сохранению локомоторной, исследовательской и мнестической функций у животных, подвергшихся гравитационной ишемии головного мозга.

4. Курсовое введение фенотропила повышает выживаемость высоко- и низкочувствительных к ишемии животных на различных моделях ишемического повреждения головного мозга. Фенотропил существенно превосходит по нейропротекторному эффекту пирацетам.

5. Однократное внутривенное введение фенотропила и пирацетама не уменьшает степени снижения локального кровотока в мозге в первые 5 – 10 мин после двухсторонней перевязки общих сонных артерий, однако фенотропил и, в меньшей степени, пирацетам способствуют некоторому восстановлению кровотока на 15-й – 60-й минуте после необратимой окклюзии каротид. Фенотропил предотвращает гибель у высокочувствительных к ишемии животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Александрин, Е. В. Лунышина, Р. С. Мирзоян, *Методология флоуметрии*, Вып. 6, 143 – 149 (2001).
2. Т. А. Воронина, Р. У. Островская, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, В. П. Фисенко (ред.), ИИА “Ремедиум”, Москва (2000), сс. 159 – 162.
3. И. В. Ганнушкина, Е. В. Коплик, И. Л. Конорова и др., *Инсульт*, № 12, 46 – 52 (2004).
4. М. Д. Гаевый, Г. В. Ковалев, *Труды ВГМИ*, XXXVII(5), 183 – 193 (1985).
5. М. Д. Гаевый, Л. М. Аджиенко, Л. М. Макарова, А. А. Абдулсалам, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 3, 63 – 64 (2000).
6. Е. И. Гусев, В. И. Скворцова, *Ишемия мозга*, Медицина, Москва (2001).
7. И. В. Жданова, Р. Н. Кордзадзе, Ю. Г. Пляшкевич, *Бюл. экпер. биол.*, Том 111, Вып 2, 165 – 167 (1991).
8. Г. В. Ковалев, *Труды ВГМИ*, XXXVII(5), 11 – 21 (1985).
9. Г. В. Ковалев, *Ноотропные средства*, Нижне-Волжское книжное издательство, Волгоград (1990).
10. В. И. Кулинский, Г. В. Михельсон, *Экспер. и клин. фармакол.*, 60(1), 56 – 58 (1997).
11. Р. С. Мирзоян, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 4, 3 – 7 (1995).
12. Р. С. Мирзоян, А. С. Саратиков, М. Б. Плотников и др., *Методические указания по экспериментальному изучению препаратов для лечения нарушений мозгового кровообращения и мигрени*, ИИА “Ремедиум”, Москва (2000), сс. 159 – 162.
13. С. А. Мирзоян, В. П. Акопян, *Влияние гамма-аминомасляной кислоты на мозговое кровообращение*, Ереван (1985).
14. Ю. Е. Москаленко, Г. Б. Вайнштейн, И. Т. Демченко и др., *Внутричерепная гемодинамика: биофизические аспекты*, Наука, Ленинград (1975).
15. В. В. Парин, Р. М. Баевский, Ю. Н. Волков, О. Г. Газенко, *Космическая кардиология*, Медицина, Ленинград (1967).
16. А. А. Сергеев, *Физиологические механизмы действия ускорений*, Наука, Ленинград (1967).

Поступила 23.10.06

COMPARATIVE EVALUATION OF THE NEUROPROTECTIVE ACTIVITY OF PHENOTROPIL AND PIRACETAM IN RATS WITH EXPERIMENTAL CEREBRAL ISCHEMIA

I. N. Tyurenkov, M. N. Bagmetov, and V. V. Epishina

Volgograd State Medical Academy, pl. Pavshikh Bortsov, Volgograd, 400131, Russia

The neuroprotective properties of phenotropil and piracetam were studied in Wistar rats with low and high sensitivity with respect to cerebral ischemia caused by bilateral irreversible simultaneous occlusion of carotid arteries and gravitational overload in craniocaudal vector. In addition, the effects of both drugs on microcirculation in the brain cortex under ischemic injury conditions were studied. Phenotropil and (to a lower extent) piracetam reduced the extent of neuralgic deficiency manifestations, retained the locomotor, research, and memory functions in animals with gravitational cerebral ischemia, increased the survival of experimental animals, and favored the restoration of local cerebral flow upon the occlusion of carotid arteries.