

# ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

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

## ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ МАЛЬВИДИНА, ГИПЕРОЗИДА И ГЛИЦИТЕИНА В УСЛОВИЯХ ФОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

А. В. Воронков, С. А. Нигарян\*, Д. И. Поздняков<sup>1</sup>

Изучены церебропротекторные свойства флавоноидов мальвидина, гиперозида и глицитеина в условиях экспериментальной фокальной ишемии головного мозга у крыс. Ишемию головного мозга воспроизводили методом необратимой правосторонней термокоагуляции средней мозговой артерии. Исследуемые соединения в дозе 100 мг/кг и препарат сравнения мексидол (100 мг/кг) вводили на протяжении 4 дней с момента воспроизведения церебральной ишемии. Оценивали изменение следующих показателей: поведенческая активность животных в тесте “Условный рефлекс пассивного избегания” и тесте “Экстраполяционное избавление”, концентрация молочной, пировиноградной кислот и гомоцистеина, степень гидратации мозговой ткани, величина зоны церебрального некроза. На фоне введения крысам изучаемых соединений отмечено восстановление памятного следа, нормализация биохимических показателей, снижение величины отека головного мозга и размера зоны некроза. Наиболее выраженный эффект отмечен при применении мальвидина.

**Ключевые слова:** церебральная ишемия; флавоноиды; мальвидин; церебропротекторы.

### ВВЕДЕНИЕ

Ишемический инсульт является одной из основных причин смертности населения в мире [7, 11]. Наиболее распространенными причинами являются окклюзия сосудов, потеря целостности сосудов (из-за разрыва сосудистой стенки либо из-за сопутствующих заболеваний), а также нарушение физиологии крови [9]. Важнейшей патофизиологической особенностью ишемического инсульта является ограничение мозгового кровотока, вследствие чего уменьшается снабжение клеток мозга кислородом, в конечном итоге приводящее к “сбою” переноса электронов в дыхательной цепи (митохондриальной дисфункции) и усилению окислительного стресса, воспаления, эксайтотоксичности и апоптоза [6, 7, 10].

Сложный патогенез ишемического инсульта, ограниченность возможностей фармакологической коррекции постинсультных состояний создают предпосылки для исследования новых веществ, способных прямо или косвенно оказывать влияние на звенья ишемического каскада [13].

Опираясь на литературные данные, следует отметить, что среди природных соединений — перспективных церебропротекторов — выделяют флавоноиды, которые обладают широким спектром фармакологической активности, минимальным проявлением побоч-

ных эффектов, а также возможностью применения в комплексной терапии [16]. Данные соединения обладают рядом фармакологических свойств, среди которых антиоксидантное, метаболическое, противовоспалительное, иммуностимулирующее действие [8, 11].

Применение флавоноидов может оказаться перспективным направлением профилактики и/или лечения ишемических поражений головного мозга.

Целью исследования являлось изучение церебропротекторных свойств флавоноидов мальвидина, гиперозида и глицитеина в условиях экспериментальной фокальной ишемии головного мозга у крыс.

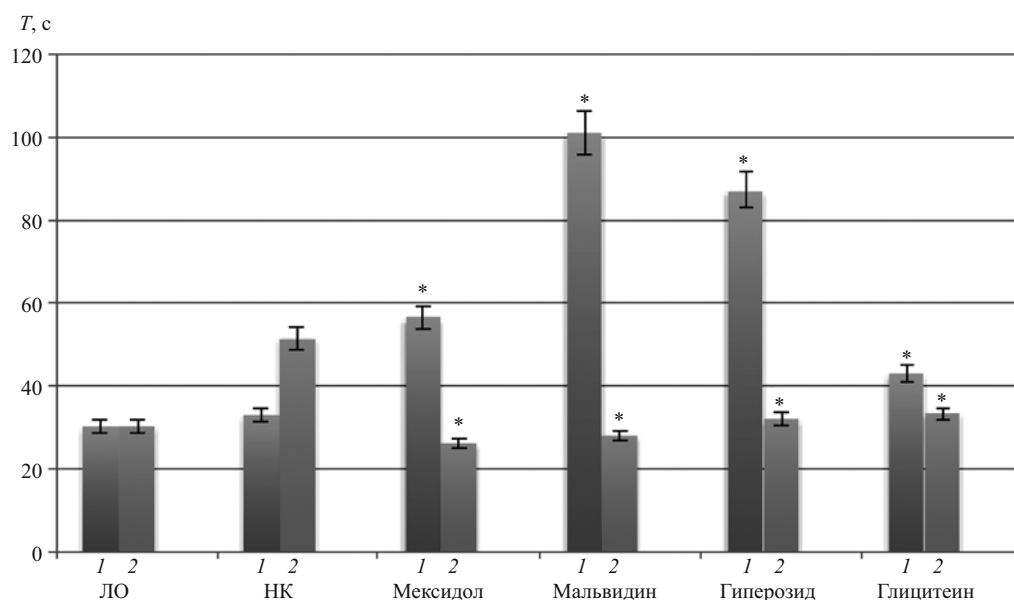
### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на 48 крысах-самцах линии Вистар массой 220–240 г, разделенных на 8 равных групп ( $n = 6$ ). Работа с животными выполнена в соответствии с общепринятыми этическими нормами: Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных целей [2].

Предварительно животные были рандомизированы по поведенческой активности в тестах “Условный рефлекс пассивного избегания” (УРПИ) и “Экстраполяционное избавление” (ЭИ). Первая группа крыс — ложнооперированные (ЛО) животные, вторая — животные группы негативного контроля (НК), получала 0,9 % раствор натрия хлорида в эквивалентном объеме. Второй и последующим группам крыс воспроизводили ишемическое повреждение головного мозга методом необратимой окклюзии правой средней мозговой артерии [13]. В качестве препарата сравнения был

<sup>1</sup> Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, Россия, 357532, Пятигорск, пр. Калинина, 11.

\* e-mail: 79682650210@eandex.ru



**Рис. 1.** Изменение активности крыс в тестах УРПИ и ЭИ на фоне исследуемых соединений: 1 – УРПИ, время латентного захода в темный отсек; 2 – ЭИ, латентное время подныривания.

Примечание: ЛО — группа ложнооперированных крыс, НК — группа крыс негативного контроля;

\* статистически значимо относительно группы крыс НК (критерий Ньюмена — Кейсла;  $p < 0,05$ ).

выбран мексидол (100 мг/кг, Мосхимфармпрепараты, Россия) [14]. Препарат сравнения и исследуемые соединения вводили интрагастрально на следующие сутки после воспроизведения ишемии и далее на протяжении 3 дней. Ранее было установлено, что наиболее выраженное церебротропное действие некоторые флавоноиды оказывают в дозе 100 мг/кг [1]. В связи с этим исследуемые объекты — гиперозид, глицитеин и мальвидин вводили животным в дозе 100 мг/кг. На 4 сут проводили тесты: УРПИ и ЭИ [4]. Далее крыс декапитировали под хлоралгидратным наркозом (350 мг/кг внутривенно) и проводили оценку следующих показателей: концентрация молочной и пировиноградной кислот в сыворотке крови, величина зоны некроза. Содержание молочной и пировиноградной кислот определяли энзиматическим колориметрическим методом с применением стандартного набора реактивов производства НПФ “Арбис +” (Санкт-Петербург, Россия). Оценка зоны некроза производили трифенилтетразолиевым методом, в основе которого изменение оптической плотности хлороформного экстракта формазана между некротизированным и интактными участками головного мозга [3]. Степень гид-

ратации головного мозга оценивали методом высушивания, для чего у животных извлекали головной мозг, инкубировали 24 ч при 60 °С. Величину отека головного мозга устанавливали по разнице масс до и после инкубации. Обработку результатов эксперимента проводили методом вариационной статистики с применением пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., США для операционной системы Windows). Полученные данные проверяли на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро — Уилка. Для сравнения средних использовали ANOVA с апостериорным критерием Ньюмена — Кейсла. В случае ненормального распределения результатов дальнейшую статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Вилкоксона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

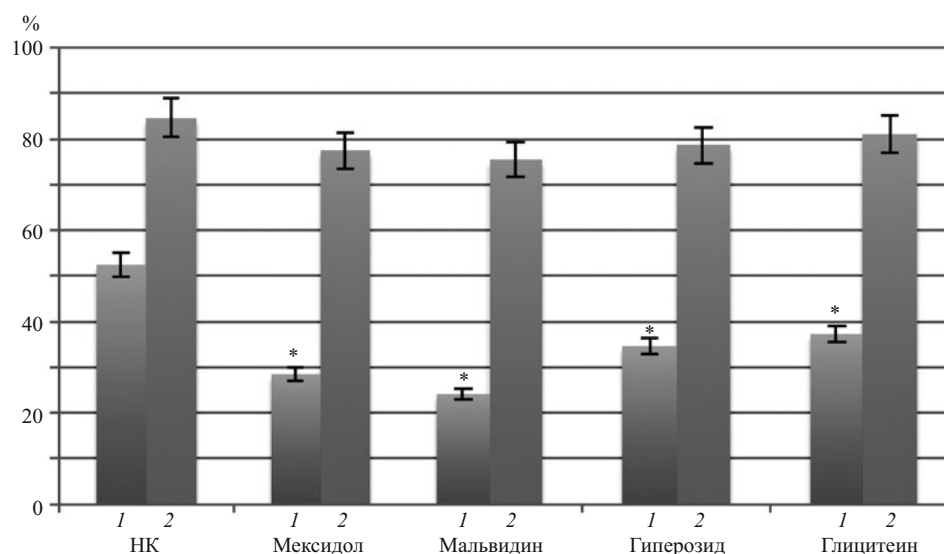
Влияние мальвидина, гиперозида и глицитеина на когнитивные функции изучали в тесте УРПИ и в тесте ЭИ. Время подныривания в тесте ЭИ у животных, получавших мексидол, уменьшилось на 97,7 % ( $p < 0,05$ ) относительно группы крыс НК. После введения животным мальвидина, гиперозида и глицитеина время

### Изменение биохимических показателей в условиях фокальной ишемии головного мозга крыс под влиянием исследуемых соединений

Исследуемый параметр	ЛО	НК	Мексидол	Мальвидин	Гиперозид	Глицитеин
Лактат, ммоль/л	1,08 ± 0,1	2,99 ± 0,024	2,57 ± 0,16*	2,15 ± 0,143*	1,41 ± 0,019*	1,7 ± 0,029*
Пируват, мкмоль/л	100,38 ± 1,1	200,68 ± 15,6	116,0 ± 4,986*	106,64 ± 3,190*	117,96 ± 8,748*	165,44 ± 4,805*
Гомоцистеин, нг/мл	10,27 ± 0,675	46,44 ± 1,054	26,65 ± 1,018*	31,46 ± 1,19*	25,88 ± 1,258*	41,94 ± 1,074*

Примечание: ЛО — группа ложнооперированных крыс, НК — группа крыс негативного контроля;

\* статистически значимо относительно группы животных НК (критерий Ньюмена — Кейсла;  $p < 0,05$ ).



**Рис. 2.** Влияние мальвидина, гиперозида и глицитеина на степень образования некроза и отека головного мозга в условиях фокальной ишемии мозга крыс: 1 – некрроз; 2 – отёк.

\* Статистически значимо относительно группы крыс НК (критерий Ньюмена — Кейсла;  $p < 0,05$ ).

подныривания было сокращено на 83,57 % ( $p < 0,05$ ), 61,63 % ( $p < 0,05$ ) и 54,58 % ( $p < 0,05$ ), соответственно, в сравнении с группой животных НК. В тесте УРПИ отмечено положительное влияние исследуемых веществ на изменение памятного следа, что проявлялось удлинением времени латентного захода крыс в темный отсек. Так, относительно группы животных НК мальвидин, гиперозид, глицитеин вызывали увеличение данного показателя на 205,54 % ( $p < 0,05$ ), 163,63 % ( $p < 0,05$ ) и 29,54 % ( $p < 0,05$ ), соответственно. В тесте УРПИ при введении крысам мальвидина и гиперозида наблюдали более выраженный эффект (на 78,76 %,  $p < 0,05$  и 53,98 %,  $p < 0,05$ ), чем при введении животным мексидола (рис. 1).

Фокальная ишемия головного мозга, воспроизведенная в экспериментальных условиях, вызвала некрроз мозговой ткани у крыс ( $52,38 \pm 3,03$  %), что соответствует литературным данным [12]. У животных группы НК наблюдалось также повышение уровня образования лактата, пирувата и гомоцистеина, относительно ЛО крыс — на 176,85 % ( $p < 0,05$ ), 99,9 % ( $p < 0,05$ ) и 352,2 % ( $p < 0,05$ ), соответственно, что может свидетельствовать об изменениях метаболических процессов в головном мозге, возникающих при острых нарушениях мозгового кровообращения [6, 14].

Введение этилметилгидроксипиридина сукцината оказало положительное влияние на обменные процессы в головном мозге, снижая уровень образования лактата, пирувата и гомоцистеина. Относительно группы крыс НК мексидол снижал образование лактата (16,3 %,  $p < 0,05$ ), пирувата (73,0 %,  $p < 0,05$ ) и гомоцистеина (72,1 %,  $p < 0,05$ ).

Мальвидин способствовал уменьшению образования лактата (39,07 %,  $p < 0,05$ ), пирувата (88,2 %,  $p < 0,05$ ) и гомоцистеина (47,6 %,  $p < 0,05$ ) относи-

тельно группы крыс НК. Относительно группы крыс, которым вводили мексидол, мальвидин снижал концентрацию лактата и пирувата на 19,5 % ( $p < 0,05$ ) и 8,8 % ( $p < 0,05$ ), соответственно. Проводя оценку зоны некроза на фоне введения животным данного соединения, обнаружено, что мальвидин уменьшал степень некроза ткани на 116,36 % ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой НК. Относительно группы животных, получавших мексидол, мальвидин снижал уровень некротизирования ткани на 17,96 % ( $p < 0,05$ ). В отношении группы крыс, получавшей холина альфосцерат, мальвидин уменьшал степень образования пирувата на 42,31 % ( $p < 0,05$ ). При сравнении с другими показателями статистически значимых результатов не наблюдали (таблица, рис. 2).

При введении животным глицитеина установлено, что соединение способствовало уменьшению уровней лактата (75,8 %,  $p < 0,05$ ), пирувата (21,3 %,  $p < 0,05$ ) и гомоцистеина (10,7 %,  $p < 0,05$ ) относительно группы животных НК. В сравнении с группой животных, получавших мексидол, глицитеин уменьшал уровень образования лактата на 51,17 % ( $p < 0,05$ ). У крыс, которым вводили глицитеин, отмечено снижение уровня некроза головного мозга на 40,43 % ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой крыс НК, при этом глицитеин не оказывал статистически значимого влияния на степень образования отека головного мозга.

Гиперозид, в свою очередь, проявлял наибольшую эффективность среди изучаемых соединений. При его введении отмечено снижение лактата (112,05 %,  $p < 0,05$ ), пирувата (70,13 %,  $p < 0,05$ ) и гомоцистеина (79,44 %,  $p < 0,05$ ) относительно группы крыс НК. По влиянию на изучаемые биохимические показатели гиперозид превосходил мексидол, снижая степень образования лактата на 82,27 % ( $p < 0,05$ ). У животных, ко-

торым вводили гиперозид, наблюдалось уменьшение степени некротизированности мозговой ткани на 51,17 % ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой крыс НК. Отек головного мозга гиперозид снижал на 7,7 % ( $p < 0,05$ ) относительно группы животных НК.

Лактат, пируват и гомоцистеин являются важными биомаркерами многих патологических состояний головного мозга, среди которых можно выделить инсульт, болезнь Альцгеймера, а также группу наследственных заболеваний, связанных с дисфункцией митохондрий [3, 15]. Известно, что одной из реакций мозговой ткани на нарушение кровотока является активация анаэробного гликолиза и, вследствие этого, увеличение образования лактата, за счет чего и происходит формирование метаболического лактатацидоза. Дальнейшие процессы в итоге приводят к нарушению ионного гомеостаза, сопровождающегося отеком клеток, осмотическому лизису клеток, в результате чего возникает некроз в зоне ишемической тени [16].

В проведенном исследовании показано, что мальвидин, глицитеин и гиперозид способствуют уменьшению образования лактата, пирувата и гомоцистеина в сыворотке крови на фоне церебральной ишемии у крыс. Таким образом, исследуемые соединения оказывают положительное влияние на метаболические процессы в головном мозге. Это указывает на перспективность дальнейшего углубленного изучения фенольных соединений растительного происхождения.

## ВЫВОДЫ

1. При воспроизведении фокальной ишемии головного мозга возникает некроз мозговой ткани у крыс, сопровождаемый развитием когнитивных нарушений. Ухудшается метаболизм и энергообмен головного мозга: увеличивается уровень лактата, пирувата, гомоцистеина.

2. Мальвидин, гиперозид и глицитеин в тесте ЭИ сокращают время латентного подныривания крыс по сравнению с группой животных НК. В тесте УРПИ отмечено удлинение времени латентного захода крыс в

темный отсек относительно группы животных НК. У крыс, получавших мальвидин, гиперозид, глицитеин, выявлено увеличение данного показателя.

3. Мальвидин, глицитеин и гиперозид уменьшают образование лактата, пирувата и гомоцистеина по сравнению с группой животных НК. Мальвидин снижает степень некроза и отека мозговой ткани.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Воронков, Д. И. Поздняков, С. А. Нигарян, *Мед. наука Армении НАН РА*, № 2, 3 – 11 (2019).
2. А. В. Воронков, Д. И. Поздняков, А. В. Мамлеев, *Совр. проблемы науки и образов.*, 5, 264 (2015).
3. А. В. Маслокова, И. К. Томилова, Е. А. Баклушина, *Вестник Ивановской мед. академии*, 20(1), 37 – 44 (2015).
4. Н. А. Тушмалова, Л. Л. Прагина, Е. Л. Мальцева и др., *Вестник Московского универ.*, № 4, 3 – 7 (2008).
5. А. А. Шульгинова, В. Б. Ласков, А. И. Конопля, А. В. Карaulов, *Эксперим. и клин. фармакол.*, 79(7), 3 – 7 (2016).
6. K. A. Allen, D. H. Brandon, *Newborn Infant Nursing Rev.: Nainr*, 11(3), 125 – 133 (2011); doi: 10.1053/j.nainr.2011.07.004.
7. S. Bullock, M. Hales, *Principles of Pathophysiology Pearson Higher Education*, AU (2012).
8. Y. Gao, L. Fang, X. Wang, et al., *Molecules*, 24(4), 788 (2019); doi: <https://doi.org/10.3390/molecules24040788>.
9. L. T. Grinberg, D. R. Thal, *Acta Neuropathol.*, 119(3), 277 – 290 (2010); doi: 10.1007/s00401-010-0652-7.
10. Y. Koga, N. Povalko, E. Inoue, et al., *Mitochondrion*, 48, 11 – 15 (2019); doi: 10.1016/j.mito.2019.02.001.
11. A. Majid, *ISRN Neurology*, 2014, 17 (2014); doi: 10.1155/2014/515716.
12. G. Tardiolo, P. Bramanti, E. Mazzon, *Molecules*, 23(12), E3305 (2018); doi: 10.3390/molecules23123305.
13. A. V. Voronkov, D. I. Pozdnyakov, S. A. Nigaryan, et al., *Pharmacy Pharmacol.*, 7(1), 20 – 31 (2019); doi: 10.19163/2307-9266-2019-7-1-20-31.
14. A. V. Voronkov, D. I. Pozdnyakov, *Res. Result Pharmacol.*, 4(2), 1 – 10 (2018); doi: 10.3897/rrpharmacology.4.26519.
15. Y. Wang, J. Lin, J. Tian, X. Si, et al., *J. Agric Food Chem.*, 67(2), 625 – 636 (2019); doi: 10.1021/acs.jafc.8b06209.
16. M. Yousefian, N. Shakour, H. Hosseinzadeh, et al., *Phytomedicine*, 55, 200 – 213 (2018); doi: 10.1016/j.phymed.2018.08.002.

Поступила 08.07.20

## EVALUATION OF THE CEREBROPROTECTIVE PROPERTIES OF MALVIDIN, HYPEROSIDE AND GLYCITEIN UNDER CONDITIONS OF FOCAL BRAIN ISCHEMIA

A. V. Voronkov<sup>1</sup>, S. A. Nigaryan<sup>1</sup>, and D. I. Pozdnyakov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, Branch of the Volgograd State Medical University, prosp. Kalinina 11, Pyatigorsk, 357532 Russia

The cerebroprotective properties of flavonoids malvidin, hyperoside, and glycitein under experimental focal cerebral ischemia conditions in rats were studied. Brain ischemia was reproduced by irreversible right-sided thermocoagulation of the middle cerebral artery. The test compounds at a dose of 100 mg/kg and the reference drug mexidol (100 mg/kg) were administered for 4 days after the onset of cerebral ischemia induction. The study evaluated changes in the following indicators: the animal's behavioral activity in the tests for "conditioned reflex of passive avoidance" and "extrapolation disposal", the concentration of lactic and pyruvic acids and homocysteine, the degree of hydration of the brain tissue, and the size of the zone of cerebral necrosis. As a result, it was found that the administration of studied drugs to rats led to the restoration of a memory trace, normalization of biochemical indices, and a decrease in the volume of cerebral edema and the size of the necrosis zone in comparison to the control group. The most pronounced positive effect was noted with the use of malvidin.

**Keywords:** cerebral ischemia; rats; flavonoids; malvidin, cerebroprotectors.