



Экспериментальное исследование влияния Мексикора на показатели перекисного окисления липидов и двигательную функцию при черепно-мозговой травме у крыс

А.В. Дерюгина¹, А.В. Шумилова¹, Е.С. Филиппенко¹, Л.В. Бояринова²,
О.Д. Соловьёва³

¹ – ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород

² – ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России, Нижний Новгород

³ – ГБУЗ Нижегородской области «Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А. Семашко», Нижний Новгород

Контактная информация: Шумилова Анастасия Владимировна, shumilowanastya@gmail.com

Исследовано действие Мексикора на перекисное окисление липидов (ПОЛ) и моторные функции в условиях посттравматического периода при моделировании черепно-мозговой травмы (ЧМТ) у крыс. Выявлено, что при ЧМТ наблюдалось значительное повышение содержания продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов, концентрации малонового диальдегида и оснований Шиффа) и снижение двигательных функций животных. Применение Мексикора при ЧМТ приводило к снижению концентрации продуктов ПОЛ и восстановлению двигательной активности по сравнению с контролем. Наиболее выраженные изменения при действии Мексикора регистрировались на 3-7 сутки посттравматического периода. Полученные данные выявили эффективность использования Мексикора при ЧМТ крыс, что выразилось в нормализации показателей ПОЛ и сокращении сроков проявления двигательной дисфункции.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, перекисное окисление липидов, двигательная активность, Мексикор.

Введение

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из важнейших проблем здравоохранения. По данным Всемирной организации здравоохранения, наряду с сердечно-сосудистыми и онкологическими заболеваниями, травматизм составляет одну из трех основных

причин смертности населения земного шара [5]. В последнее время отмечается неуклонное увеличение удельного веса ЧМТ, которые часто сопровождаются тяжелой инвалидизацией, причем 92% составляют лица трудоспособного возраста [7]. Вследствие травматического повреждения мозга запускаются каскад-

ные необратимые морфофункциональные дистрофические и некротические процессы, которые во многом определяют выраженность моторных и когнитивных нарушений в посттравматическом периоде [2].

Объективно характеризуют тяжесть патологического процесса и физиологического напряжения травмированного мозга свободнорадикальные процессы. Выявлена корреляция изменения количественного содержания продуктов ПОЛ в периферической крови, слюне и спинномозговой жидкости у пациентов с ЧМТ [8]. Активация ПОЛ играет ключевую роль в возникновении и развитии отека головного мозга, повреждения гематоэнцефалического барьера, увеличении степени дезинтегративных преобразований мембранных структур клеток, существенно нарушая их функцию [9].

В настоящее время одно из ведущих мест в лечении травматических повреждений мозга при ЧМТ занимает медикаментозная терапия, направленная на предотвращение гипоксии мозга, улучшение обменных процессов. Однако, учитывая существенный вклад свободнорадикальных реакций, продуктов ПОЛ в повреждение мозга при ЧМТ, обоснованным в коррекции посттравматических нарушений является применение препаратов с антиоксидантной активностью. В то же время в общепринятых схемах интенсивной терапии больных с ЧМТ нет указаний на необходимость контроля свободнорадикального окисления и назначения антиоксидантной терапии.

Сочетанием антигипоксического действия с антиоксидантным обладает синтетический препарат Мексикор, представляющий собой комплексное

соединение антигипоксанта сукцината с антиоксидантом эмоксипином [4]. Однако Мексикор широко используется в качестве метаболического кардиоцитопротектора, и применение его в качестве лекарственного средства при ЧМТ требует проведения объективных исследований.

Целью работы явилось изучение действия Мексикора на динамику процессов перекисного окисления липидов крови и моторные функции в условиях посттравматического периода при моделировании черепно-мозговой травмы у крыс.

Материалы и методы

Исследование проведено на 30 нелинейных крысах-самках массой 180-200 г, по 15 крыс в каждой группе. Содержание и оперативные вмешательства осуществляли в соответствии с нормативами, данными в Руководстве «Guide for care and use of laboratory animals. ILAR publication, 1996, National Academy Press» и Приказом Минздрава России № 199н от 01.04.16 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

Животным, фиксированным на планшете, моделировали ЧМТ путем свободного падения груза массой 100 г с высоты 80 см на теменно-затылочную область головы [10]. Опытной группе в течение 12-ти дней после ЧМТ ежедневно внутрибрюшинно два раза в день вводили Мексикор (р-р для внутривенного и внутримышечного введения, ООО «ЭкоФармИнвест», Москва) в концентрации 8 мг/кг в сутки, контрольной группе – физ. раствор в том же объеме. Первое введение препарата осуществля-

ли через 1 ч после нанесения животным ЧМТ. Уровень физиологической нормы определяли у интактных животных.

Забор крови в опытной и контрольной группах производили на 1, 3, 7 и 12-е сутки после альтерации из подъязычной вены. Оценивали интенсивность процессов ПОЛ в плазме крови по накоплению первичных (диеновых и триеновых конъюгатов) и конечных (оснований Шиффа) продуктов липидной перекисидации. Определяли продукты ПОЛ в гептан-изопропанольных экстрактах биологического материала спектрофотометрически [3] на спектрофотометрах СФ 2000 (Россия). Результаты оценивали по относительным величинам E232/E220, E278/E220, E400/E220 и выражали в относительных единицах. Концентрацию малонового диальдегида (МДА) определяли в плазме крови и эритроцитах по реакции с тиобарбитуровой кислотой спектрофотометрически [6]. Используемые в опытах эритроциты трижды отмывали 0,85% раствором хлористого натрия, центрифугируя 10 мин при 1500 об/мин.

Двигательную функцию крыс оценивали в тесте «Метод передвижения по бруску» [11]. В течение двух суток до травмы крыс обучали передвигаться по узкому (шириной 2 см) деревянному бруску. Движение стимулировали ярким светом, источник которого располагался у одного конца бруска, у другого конца была расположена темная камера, в которой животное укрывалось от света. В посттравматическом периоде определяли время, затрачиваемое на передвижение по бруску, и способность балансировать и оставаться на бруске, регистрируя успешное выполнение задачи либо невозможность выполнения

задачи (минимальное количество баллов – 0, максимальное – 10). Дополнительно фиксировали частоту соскальзывания лап при движении по бруску (максимальный показатель составил 4 балла, что соответствовало 4 и более соскальзываний лап, 0 баллов – отсутствие соскальзываний).

Полученные данные были обработаны с помощью пакетов прикладных программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel. Достоверность различий средних определяли по t-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

По результатам проведенного исследования было выявлено существенное отличие в динамике процессов ПОЛ в опытной и контрольной группах. В контрольной группе животных наблюдалось увеличение диеновых конъюгатов на первые сутки, триеновых конъюгатов были повышены на 1-7 сутки, концентрация МДА увеличивалась на третьи сутки посттравматического периода, основания Шиффа повышались к седьмым суткам наблюдения и оставались повышенными до конца эксперимента. В опытной группе животных, также через сутки после травмы, по сравнению с интактными животными отмечалось незначительное увеличение в плазме диеновых конъюгатов и значимое – триеновых конъюгатов, но при этом величина диеновых конъюгатов с третьих суток после травмы достоверно уменьшалась по сравнению с интактными животными, уровень триеновых конъюгатов на третьи и седьмые сутки посттравматического периода не отличался от значений интактных крыс. Кон-

центрация МДА в плазме крови была снижена относительно показателей до травмы с первых до седьмых суток наблюдения, основания Шиффа на фоне введения Мексикора в течение всего посттравматического периода не превышали значений интактных животных.

Концентрация МДА в эритроцитах крыс, повышенная к первым суткам после ЧМТ, при действии Мексикора существенно снижалась к третьим суткам посттравматического периода, у животных в контрольной группе наблюдалось восстановление содержания данного метаболита до значений интактной группы к седьмым суткам после ЧМТ ($p < 0,05$) (табл. 1).

Содержание ДК в плазме крови интактных животных составило $0,14 \pm 0,01$ отн.ед., ТК – $0,05 \pm 0,01$ отн. ед., ОШ –

$3,58 \pm 0,84$ отн.ед., концентрация МДА в плазме крови – $0,92 \pm 0,05$ нМоль/мл, концентрация МДА в эритроцитах интактных животных – $0,15 \pm 0,03$ нМоль/мл.

Исследование двигательной активности крыс также выявило существенные различия контрольной и опытной групп. Хотя в посттравматический период время, затрачиваемое на передвижение по бруску, и частота соскальзывания лап увеличились относительно значений интактной группы, но на фоне введения Мексикора в исследуемых тестах отмечены значительно меньшие отклонения от значений интактной группы, чем в контрольной группе. Так, уже к первым суткам после ЧМТ у животных при действии Мексикора отмечалось значимое улучшение моторной активности по сравнению с контролем и полное восстановление

Таблица 1
Динамика показателей продуктов ПОЛ сравниваемых серий (M±m) в посттравматический период

Показатель	Группа	Время после ЧМТ (сутки)			
		1	3	7	12
ДК, отн. ед.	контроль	$0,20 \pm 0,02^*$	$0,13 \pm 0,02$	$0,15 \pm 0,02$	$0,12 \pm 0,02$
	опыт	$0,16 \pm 0,02$	$0,09 \pm 0,01^{**}$	$0,13 \pm 0,06$	$0,09 \pm 0,01^{**}$
ТК, отн. ед.	контроль	$0,14 \pm 0,03^*$	$0,09 \pm 0,03^*$	$0,17 \pm 0,02^*$	$0,03 \pm 0,02$
	опыт	$0,11 \pm 0,04^{**}$	$0,05 \pm 0,005^*$	$0,09 \pm 0,04^*$	$0,02 \pm 0,01^{**}$
МДА плазмы, нМоль/мл	контроль	$1,07 \pm 0,14$	$1,24 \pm 0,17^*$	$0,87 \pm 0,06$	$0,83 \pm 0,15$
	опыт	$0,79 \pm 0,07^{**}$	$0,75 \pm 0,10^{**}$	$0,75 \pm 0,05^{**}$	$1,08 \pm 0,09$
ОШ, отн. ед.	контроль	$4,11 \pm 0,96$	$3,20 \pm 0,98$	$6,46 \pm 0,92^*$	$5,41 \pm 0,75^*$
	опыт	$4,51 \pm 1,03$	$2,72 \pm 0,44$	$5,00 \pm 1,33$	$3,25 \pm 0,41^*$
МДА эритроцитов, нМоль/мл	контроль	$0,21 \pm 0,02^*$	$0,23 \pm 0,04^*$	$0,20 \pm 0,06$	$0,11 \pm 0,06$
	опыт	$0,23 \pm 0,04^{**}$	$0,09 \pm 0,02^{**}$	$0,17 \pm 0,05$	$0,10 \pm 0,04$

Примечание: * – статистически значимые отличия значений контрольной группы от интактной группы, $p < 0,05$; ** – статистически значимые отличия значений опытной группы от интактной группы, $p < 0,05$; • – статистически значимые отличия опытной группы от контрольной группы.

Таблица 2

Динамика двигательной активности ($M \pm m$) в посттравматический период

Сутки	Оценка передвижения по бруску, баллы		Частота соскальзывания лап, баллы	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Интактные	3,0±0,01		0	
1	7,4±0,9*	4,8±0,8*•	3,0±0,5*	1,6±0,7*•
3	5,8±0,9*	4,2±0,4*	1,4±0,7*	1,0±0,4*
7	4,4±0,5*	3,0±0,3•	1,0±0,5*	0,4±0,2*
12	4,4±0,7	2,8±0,2•	1,2±0,5*	0

Примечание: * – статистически значимые отличия полученных значений от значений до воздействия, $p < 0,05$;

• – статистически значимые отличия от контрольной группы, $p < 0,05$.

передвижения по бруску к седьмым суткам посттравматического периода, в отличие от контроля, в котором показатели двигательной активности приближались к интактным значениям к двенадцатым суткам наблюдения (табл. 2).

Полученные результаты выявили эффективность использования Мексикора при ЧМТ крыс. Действие Мексикора при ЧМТ сопровождалось снижением всех показателей ПОЛ – как промежуточных (что особенно важно, оснований Шиффа), так и конечных продуктов, вызывающих повреждение клеточных мембран и способствующих разобщению ферментных систем. Ингибирование процессов липидной перекисидации обусловлено антирадикальной составляющей Мексикора – эмоксипином, активно взаимодействующим с перекисными радикалами липидов. Так, в ходе проведенных экспериментов Мексикор ингибировал развитие окислительного стресса на уровне диеновых конъюгатов и триеновых конъюгатов, прерывая синтез оснований Шиффа. Следует отметить, что содержание в Мексикоре сукцината способствует метаболиче-

ской активности клеток. Янтарная кислота позволяет поддерживать процессы ФАД-зависимого образования АТФ в клетках [1]. Это важно, т.к. сукцинатаксидазное звено цикла Кребса угнетается при гипоксии и ишемии значительно позднее по сравнению с НАД-зависимыми оксидазами и может достаточно длительно поддерживать энергопродукцию в клетке при условии наличия в митохондриях субстрата окисления в данном звене – сукцината [4]. Оптимизация энергопродукции позволила предотвратить альтерацию нервных клеток и достигнуть в посттравматический период эффективного восстановления двигательных функций.

Заключение

Таким образом, результаты экспериментальных исследований показали, что применение Мексикора при ЧМТ способствует нормализации ПОЛ и восстановлению двигательных нарушений в посттравматический период. Наиболее выражено действие препарата на начальном этапе реабилитационного периода.

Список литературы

1. *Бояринов Г.А., Котлов И.С., Бричкин Ю.Д.* Эффективность цитопротекторов в профилактике реперфузионного синдрома у больных инфарктом миокарда при тромболитической терапии // Поликлиника. 2010. № 6. С. 73-79.
2. *Волохова Г.А., Стоянов А.Н.* Солкосерил-индуцированная нормализация патоморфологических нарушений структур мозга при черепно-мозговой травме в условиях эксперимента // Межд. неврол. журнал. 2008. Т. 3. № 19. С. 49-54.
3. *Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И.* Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопр. медицинской химии. 1989. Т. 35. № 1. С. 127-131.
4. *Егоров И.В.* Современные подходы к антиоксидантной поддержке пациентов с сердечно-сосудистой патологией // Поликлиника. 2008. № 2. С. 25-28.
5. *Захаров Г.А., Волкович О.В., Горохова Г.И., Карамышева А.В.* Влияние прогестерона на морфометрические показатели сосудистого и клеточного компонентов ткани головного мозга у крыс с черепно-мозговой травмой // Вестник ТГУ. 2014. Т. 19. № 2. С. 738-740.
6. *Крылов В.Н., Дерюгина А.В., Плескова С.Н., Калинин В.А.* Апоптозный характер гемолиза эритроцитов, индуцированный малыми дозами ионизирующей радиации // Биофизика. 2015. Т. 60. № 1. С. 102-108.
7. *Львовская Е.И., Садова В.А., Сумная Д.Б., Держинский Д.Б.* Состояние процессов липидной перекисидации в острый период тяжелой черепно-мозговой травмы // Вестник ЮУрГУ. 2010. Т. 22. № 6. С. 82-84.
8. *Садова В.А., Бельская Г.Н., Львовская Е.И., Сумная Д.Б.* Нарушение процессов липидной перекисидации как аспект нейрохимических особенностей межполушарной асимметрии в остром периоде черепно-мозговой травмы // Невролог. вестник. 2008. Т. XL. № 4. С. 130-133.
9. *Садова В.А., Бельская Г.Н., Львовская Е.И., Сумная Д.Б., Кучин Д.Г., Атманский И.А. и др.* Клинико-биохимическая оценка динамики острого периода черепно-мозговых и сочетанных травм // Клиническая неврология. 2013. Т. 7. № 4. С. 27-31.
10. *Цымбалюк В.И., Кочин О.В.* Экспериментальное моделирование черепно-мозговой травмы // Укр. нейрохирург. журн. 2008. № 2. С. 10-12.
11. *Saatman K.E., Murai H., Bartus R.T., et al.* Calpain inhibitor AK295 attenuates motor and cognitive deficits following experimental brain injury in the rat // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. No. 93. P. 3428-3433.

Experimental study on the effect of Mexicor indicators of lipid peroxidation and motor function in traumatic brain injury in rats

A.V. Deryugina, A.V. Shumilova, E.S. Filippenko, L.V. Boyarinova,
O.D. Solov'eva

The action of Mexicor on lipid peroxidation (LPO) and motor function in the conditions of post-traumatic period in the simulation of traumatic brain injury (TBI) in rats was studied. It was revealed that the head injury was a significant increase in the content of lipid peroxidation products (conjugated diene, triene conjugates concentration of malondialdehyde and Schiff bases) and decreased motor function of animals. Application of Mexicor in head injury led to a decrease in the concentration of lipid peroxidation products and the restoration of motor activity compared with the control. The most pronounced changes during the action of Mexicor registered on 3-7 day of post-traumatic period. The findings revealed the efficiency of Mexicor for rats with TBI, which was reflected in the normalization of lipid peroxidation and reducing the timing of the motor dysfunction.

Key words: traumatic brain injury, lipid peroxidation, motor activity, Mexicor.