



Церебропротекторные эффекты пирацетама и его комбинации с мелаксеном при глобальной ишемии головного мозга у крыс

Е.В. Ганцгорн¹, Ю.С. Макляков¹, Д.П. Хлопонин¹, А.Е. Матухно¹,
О.М. Куделина¹, Н.Н. Каркищенко²

¹ – Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону

² – Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

Контактная информация: Ганцгорн Елена Владимировна strelez_alena@mail.ru

С помощью спектрального анализа ЭЭГ на модели глобальной церебральной ишемии у крыс изучались эффекты пирацетама и мелаксена в условиях нарушения мозгового кровообращения. Установлено, что превентивное применение комбинации этих лекарственных препаратов значительно уменьшает степень неблагоприятного воздействия циркуляторной ишемии на функциональное состояние головного мозга. Полученные результаты могут быть использованы в клинической практике для лечения ишемических и нейродегенеративных заболеваний головного мозга.

Ключевые слова: пирацетам, мелаксен, церебральная ишемия, ЭЭГ.

Большая медико-социальная значимость проблемы нарушений мозгового кровообращения (НМК) объясняется их широкой распространенностью, тяжестью течения, высокими показателями инвалидизации и смертности. Вершиной «айсберга» цереброваскулярных заболеваний являются инсульты и острые церебральные сосудистые кризы [2]. Несмотря на достижения последних лет в области реаниматологии, неврологии и фармакологии, летальность по причине острых НМК занимает одно из ведущих мест в структуре смертности, составляя в России 21,4%. Острые НМК прочно удерживают первое место среди всех причин нетрудоспособности и первичной инвалидизации – 3,2 случая на

10 тыс. населения нашей страны [6]. В мировом масштабе острые НМК занимают третье место в структуре общей смертности после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [3, 9]. В связи с этим, проблема эффективной патогенетической терапии сосудистых поражений головного мозга является одной из важнейших для современной медицины, а изучение патогенетических механизмов и поиск новых подходов к лечению НМК – одной из актуальных задач клинической неврологии и фармакологии.

С учетом временной динамики процессов формирования инфаркта мозга принята система последовательных терапевтических мероприятий по его

фармакотерапии. Арсенал антигипоксических средств в настоящее время достаточно широк. К их числу относят антагонисты глутамата и различных модуляторных рецепторов, антагонисты кальция, ноотропы, антиоксиданты и др. [5]. Актуальным является комбинированное применение агентов первичной нейропротекции, в частности, антиоксидантов, и средств вторичной защиты, к числу которых относят и ноотропные препараты (НП) [8]. «Эталонным» НП до настоящего времени остается пирацетам. Основным механизмом его действия, как и многих других ноотропов, связан с изменением метаболических, биоэнергетических процессов в нейроне, повышением скорости оборота информационных макромолекул и активацией синтеза белка [4]. Среди антиоксидантных средств особый интерес представляет мелатонин, обладающий, по данным [1], самым мощным нейроантиоксидантным действием. Это обусловлено способностью мелатонина связывать в ткани головного мозга свободные радикалы кислорода, одновременно стимулируя эндогенную систему антиоксидантной защиты (через активацию супероксиддисмутазы и каталазы). Подобные свойства данного гормона в сочетании с иммуномодулирующей активностью оправдывают необходимость его активного использования при разнообразной острой и хронической патологии ЦНС в качестве оригинального церебропротектора [1].

Анализ действия НП представляется важным в связи со сложной композицией отдельных характеристик спектра активности препаратов этого ряда. Важное место среди методов количественной оценки психотропных эффектов лекарственных средств, включая и ноотропы,

занимает количественная ЭЭГ (КЭЭГ), которая позволяет достоверно оценить особенности биоэлектрической активности головного мозга в зависимости от его функционального состояния, а также на фоне действия психотропных веществ [7].

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 40 половозрелых беспородных крысах-самцах массой 200-250 г. Животные содержались в условиях вивария при естественном освещении, влажности 55-60% и t воздуха $20 \pm 2^\circ\text{C}$ в пластиковых клетках размером $55 \times 45 \times 15$ см, с подстилкой из древесных опилок, по 5-6 особей в клетке. Крысы потребляли гранулированный комбикорм (производитель ООО «Лабораторснаб») и воду *ad libitum* в поилках объемом 200 мл. В эксперимент животных забирали после 7-ми дней карантина. Все эксперименты были выполнены в соответствии с рекомендациями по гуманному обращению с лабораторными животными, утвержденными этическим комитетом РостГМУ.

В соответствии с протоколом исследования, животные были разделены на 4 группы, по 10 крыс в каждой:

1) интактная (И) – ложнооперированные животные, получавшие в течение 14-ти дней физиологический раствор в дозе 0,2 мл/сут внутримышечно, у которых воспроизводили все этапы операции без перевязки сонных артерий;

2) контрольная (К) – животные, также в течение 14-ти дней получавшие физиологический раствор в эквивалентном группе И объеме, у которых моделировали глобальную ишемию головного мозга;

3) группа П – животные, получавшие в течение 14-ти дней пирацетам в дозе 300 мг/кг/сут однократно внутримышеч-

но, у которых моделировали глобальную ишемию головного мозга;

4) группа П+М – животные, получавшие в течение 14-ти дней пирацетам в дозе 300 мг/кг/сут однократно внутримышечно и мелаксен в дозе 0,25 мг/кг/сут однократно *per os*, и у которых моделировали глобальную ишемию головного мозга.

За 5 дней до моделирования ишемии головного мозга всем животным в область соматосенсорной коры и гиппокампа (симметрично справа и слева) вживлялись электроды в соответствии с атласом стереотаксических координат головного мозга крысы [10], индифферентный электрод локализовался в лобной пазухе. Операции проводились под эфирным наркозом с помощью стереотаксической установки СЭЖ-4 (производства Института физиологии им. А.А. Богомольца, Украина) и микроманипуляторов для погружения микроэлектродов. Фиксация электродов производилась с помощью стоматологической пластмассы холодной полимеризации «Протакрил» на голове животного. Спектральные характеристики электрограмм мозга определялись с помощью быстрого преобразования Фурье в диапазоне 1-30 Гц. ЭЭГ мозга животных регистрировались монополярно на 8-канальном электроэнцефалографе-анализаторе ЭЭГА-21/26 «Энцефалан 131-03» до и через 24 ч после моделирования ишемии мозга. Изучены показатели относительной спектральной мощности (%) для Δ (дельта) – (1-4 Гц), θ (тета) – (5-7 Гц), α (альфа) – (8-12 Гц) и β (бета) – (13-30 Гц) частотных диапазонов ЭЭГ крыс. Для объективной оценки использовали метод количественного анализа структуры ЭЭГ. Анализировались относительные значения мощностей (ОЗМ) частотных диапазонов.

Ишемизация головного мозга достигалась перевязкой левой и правой сонных артерий. Все хирургические процедуры проводили в стерильных условиях под тиопенталовым наркозом (120 мг/кг массы животного внутрибрюшинно). Рану обрабатывали антисептиком и послойно ушивали. Через 24 ч отмечали количество выживших крыс во всех группах и регистрировали у них ЭЭГ. После этого производили эвтаназию животных под эфирным наркозом.

Статистическую обработку полученных данных проводили на ПК с использованием общепринятых методов параметрической статистики (t-критерий Стьюдента) при помощи пакета статистических программ Statistica for Windows 6.0 (Statsoft, USA).

Результаты и их обсуждение

Анализ выживаемости крыс показал, что в группе И была 0% летальность, в группе К летальность составила 70,5% (из 34 прооперированных крыс 24-часовую окклюзию сонных артерий пережили 10 животных), в группе П показатель летальности составил 49% (выжили 10 крыс из 19 прооперированных). Самый низкий показатель летальности (34%) наблюдался в группе П+М (из 15 прооперированных крыс выжили 10).

При изучении ЭЭГ-спектров, зарегистрированных до моделирования ишемии головного мозга, было установлено, что электрограммы животных групп И и К не имели существенных различий в распределении частотных диапазонов, но отличались от таковых в опытных группах. В группе П увеличивалось представительство высокочастотных диапазонов активности, особенно β-ритма в коре по сравнению с группами И и К (табл. 1).

В группе П+М наблюдалось значи-

Таблица 1

ЭЭГ ОЗМ распределение по диапазонам частот групп животных до ишемии, %

Координаты электродов	Дельта	Тета	Альфа	Бета
Группы И и К				
P4-A2	11,95±0,63	43,53±0,42	6,31±0,23	38,21±0,45
P3-A1	12,28±0,52	44,36±0,56	3,96±0,34	39,40±0,53
C4-A2	5,13±0,71	12,76±0,47	25,72±0,35	56,39±0,46
C3-A1	4,16±0,68	13,40±0,62	23,80±0,42	58,64±0,61
Группа П				
P4-A2	6,51±0,31	44,21±0,64	8,13±0,52	41,15±0,67
P3-A1	4,64±0,24	45,17±0,56	7,08±0,62	43,11±0,54
C4-A2	1,41±0,57	12,06±0,53	27,44±0,55	59,09±0,61
C3-A1	1,12±0,41	11,85±0,49	26,01±0,48	61,02±0,45
Группы П+М				
P4-A2	4,31±0,61	45,11±0,43	9,24±0,48	41,34±0,56
P3-A1	2,25±0,43	46,87±0,41	8,15±0,62	42,73±0,61
C4-A2	0,72±0,52	13,56±0,68	26,23±0,47	60,12±0,58
C3-A1	0,61±0,57	13,24±0,54	24,31±0,53	62,02±0,49

Примечание: P4-A2 – координаты электродов в гиппокампе справа; P3-A1 – координаты электродов в гиппокампе слева; C4-A2 – координаты электродов в соматосенсорной коре справа; C3-A1 – координаты электродов в соматосенсорной коре слева; p<0,05.

Таблица 2

ЭЭГ ОЗМ распределение по диапазонам частот через 24 ч после ишемии в группах, %

Координаты электродов	Дельта	Тета	Альфа	Бета
Группа К				
P4-A2	47,07±0,56	33,67±0,73	3,69±0,43	15,57±0,48
P3-A1	45,60±0,62	36,10±0,68	4,47±0,47	13,83±0,54
C4-A2	34,88±0,47	19,92±0,53	19,64±0,55	25,56±0,61
C3-A1	38,39±0,51	18,86±0,52	18,24±0,59	24,51±0,64
Группа П				
P4-A2	32,15±0,86	34,25±1,03	4,21±0,94	29,39±0,82
P3-A1	34,58±0,92	33,12±0,97	3,74±0,87	28,56±0,95
C4-A2	19,93±0,95	14,39±1,08	21,94±0,94	43,74±0,84
C3-A1	22,16±0,91	15,07±0,89	20,41±0,79	42,36±0,97
Группа П+М				
P4-A2	20,68±1,02	40,64±0,93	5,28±0,78	33,40±1,01
P3-A1	19,11±0,85	41,20±0,86	3,73±0,81	35,96±0,92
C4-A2	13,52±0,92	11,41±0,91	22,32±0,88	52,75±0,83
C3-A1	11,41±0,84	12,32±1,04	21,86±0,76	54,41±0,87

Примечание: P4-A2 – координаты электродов в гиппокампе справа;
 P3-A1 – координаты электродов в гиппокампе слева;
 C4-A2 – координаты электродов в соматосенсорной коре справа;
 C3-A1 – координаты электродов в соматосенсорной коре слева;
 p<0,05.

тельное улучшение функциональной активности коры головного мозга: мощность α - и β -ритмов превышала аналогичные показатели в группах И и К; также происходило увеличение представительства θ -ритма в гиппокампе (табл. 1).

Через 24 ч после проведения окклюзии сонных артерий в группе К произошло значительное перераспределение ЭЭГ ритмов, что служит критерием выраженной гипоксии головного мозга: увеличение Δ -ритма (во всех отведениях), выраженное снижение доминирующего в норме β -ритма в корковых отведениях и θ -ритма в гиппокампе. Наиболее значительные нарушения биоэлектрической активности мозга наблюдались в гиппокампе (табл. 2).

В группе животных П ЭЭГ также претерпела подобные изменения, но они носили не столь выраженный характер (табл. 2).

Однако наиболее благоприятные результаты наблюдались в группе крыс П+М: Δ -ритм увеличился незначительно, а мощность β - и θ -ритмов была близка к уровню интактных животных (табл. 2).

Проведенные исследования показали: использованная модель глобальной ишемии головного мозга у крыс вызывает значительное нарушение церебрального кровообращения, особенно в области гиппокампа, что отражается в динамике частотно-амплитудных показателей количественной ЭЭГ. Параметры КЭЭГ явились маркерами церебральной ишемии и информативными показателями для оценки особенностей влияния изучаемых препаратов на функциональное состояние головного мозга. Установлено, что пирацетам обладает способностью повышать активность головного мозга крыс, проявляя психостимулирующее действие, о чем

свидетельствуют изменения в ЭЭГ показателях: увеличение мощности α - и β -активности в коре. Особенностью же действия комбинации пирацетама и мелаксена у крыс является сбалансированное улучшение функциональной активности и коры головного мозга, и гиппокампа, в пользу чего говорит увеличение мощности доминирующих в норме β - и θ -ритмов.

Выводы

Таким образом, на основании полученных нами результатов, можно констатировать, что пирацетам, а еще в большей степени его комбинация с мелаксеном на модели глобальной церебральной ишемии у крыс способны повышать устойчивость головного мозга к гипоксии, а также оказывать благоприятное влияние на его биоэлектрическую активность. В связи с этим, на наш взгляд, при фармакотерапии и фармакопрофилактике острых НМК целесообразным является включение в стандартный перечень применяемых лекарственных средств нейрогономона мелатонина.

Список литературы

1. **Арушанян Э.Б.** Изучение психотропной активности гормона эпифиза мелатонина - оригинальное направление наших исследований // Эксп. и клин. фарм. 2007. №.6. С. 55-60.
2. **Верещагин Н.В., Пирадов М.А., Суслина З.А.** Инсульт. Принципы диагностики, лечения и профилактики. М.: 2002. С. 208.
3. **Виленский Б.С.** Инсульт: профилактика, диагностика и лечение. Изд. 2-е, доп. – СПб.: Изд-во «Фолиант». 2002. С. 397.
4. **Воронина Т.А.** Гипоксия и память. Особенности эффектов и применение

- ния ноотропных препаратов // Вестник РАМН. 2000. №9. С. 27–34.
5. *Гусев Е.И., Скворцова В.И.* Ишемия мозга. – М.: Медицина. 2002. С. 328.
6. *Гусев Е.И., Скворцова В.И., Стаховская Л.В.* Эпидемиология инсульта в России // Журн. неврол. и психиатр. (приложение «Инсульт»). 2003. №8. С. 4-9.
7. *Каркищенко Н.Н.* Альтернативы биомедицины. т.2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии. М.: Изд-во ВПК. 2007. С. 448.
8. *Скворцова В.И.* с соавт. Принципы ранней реабилитации больных с инсультом // Журн. неврол. и психиатр. 2002. № 7. С. 28-33.
9. *Hufschmidt A., Lucking C.* Neurologie Compact. Leitlinien für Klinik und Praxis. Thieme Verlag. 2003. 582 p.
10. *Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic coordinates., 4th Edition. 1998. P. 403-405.

Piracetam & piracetam combination with melaxen cerebroprotective effects at global cerebral ischemia in rats

E.V. Ganzgorn, Yu.S. Maklyakov, D.P. Khloponin, A.E. Matukhno, O.M. Kudelina, N.N. Karkischenko

On the base of EEG spectral analysis we've studied the effects of piracetam and its combination with melaxen in the conditions of cerebral blood flow disturbance in a rat model of global cerebral ischemia. It was established, that preventive usage of piracetam & melaxen combination significantly reduces the degree of circulatory ischemia adverse effects on the functional state of the rat brain. The obtained results can be used in clinical practice for the treatment of ischemic and neurodegenerative brain diseases.

Key words: piracetam, melaxen, cerebral ischemia, EEG.

Изучение острой токсичности и раздражающего действия лецитина

А.К. Гусейнов¹, В.Н. Каркищенко², А.В. Сергиенко¹, М.Н. Ивашев¹

¹ – Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск

² – Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

Контактная информация: д.м.н., профессор Ивашев Михаил Николаевич ivashev@bk.ru

Проведенные исследования на куриных эмбрионах и конъюнктиве морских свинок показали, что лецитин биотехнологический не обладает раздражающей активностью и безопасен в применении для слизистых оболочек млекопитающих. По Hodge и Sterner и классификации К.К. Сидорова субстанция лецитина биотехнологического может быть отнесена к практически нетоксичным препаратам LD₅₀>5000 мг/кг.

Ключевые слова: раздражающая активность, острая токсичность, лецитин.

Высококачественный лецитин представляет собой смесь фосфолипидов, состоящую из холина, инозитола и фосфатидов. Эти компоненты относятся к группе важнейших нутриентов питания, дефицит которых является серьезной проблемой для здоровья абсолютно числа населения. Особую опасность представляет недостаток лецитина в диете у детей раннего возраста, что особенно сказывается при искусственном вскармливании ребенка, ведь грудное молоко матери является единственным источником лецитина для младенца [4, 9, 10].

Длительное время добавление липидов в парентеральном питании рассматривалось исключительно как источник энергии и способ предупреждения или коррекции дефицита незаменимых жирных кислот [8].

Такое одностороннее использование лецитина позволило сделать предположение о том, что недооценены фармакологические свойства ценного метаболического корректора и средства заместительной терапии. Необходимо

эмпирическое обоснование и научное подтверждение с помощью экспериментального моделирования патологического состояния лабораторных животных возможности применения лецитина как средства комплексной нейропротекторной и кардиопротекторной терапии. Учитывая химический состав лекарственных форм лецитина и комплексных лекарственных средств, содержащих лецитин в качестве вспомогательного компонента, целесообразно изучение определения у лецитина индивидуальной фармакологической активности с целью расширения фармакодинамических параметров.

Цель исследования: изучение безопасности применения биотехнологического лецитина в сравнении с лецитином растительного и животного происхождения. Для определения дозировки и кратности субстанции, для возможности длительного применения субстанции, предложенной для наполнения капсул, необходимо сначала определить степень безопасности: раздражающее действие и токсичность.