

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СТРЕССПРОТЕКТОРНОГО ВЛИЯНИЯ ЦИТОФЛАВИНА И КАРДИОКСИПИНА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НАРУШЕНИЯ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА

Водопьянова О.А.¹, Хоронекко С.Е.², Антропова Н.В.¹, Родина О.П.¹, Моисеева И.Я.¹

¹ ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет», Пенза, Россия (440026, г. Пенза, ул. Красная, 40), e-mail: cnit@pnzgu.ru

² ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск, Россия (430025, г. Саранск, ул. Ульянова, 26), e-mail: dep-mail@adm.mrsu.ru

Проведено исследование влияния препаратов с антиоксидантной активностью цитофлавина и кардиоксипина на поведение белых нелинейных крыс при экспериментальном нарушении липидного обмена. Экспериментальное нарушение липидного обмена моделировали при помощи экзогенного холестерина в дозе 40 мг/кг и витамина Д₂. Животные были разделены на 4 группы: интактные, экспериментальное нарушение липидного обмена (контроль), экспериментальное нарушение липидного обмена и коррекция с помощью цитофлавина, экспериментальное нарушение липидного обмена и коррекция с помощью кардиоксипина. Препараты вводили в течение 10 дней. Психоэмоциональное состояние животных оценивали по результатам изучения поведения в тесте «Открытое поле». Показана способность цитофлавина и кардиоксипина оказывать в условиях экспериментального нарушения липидного обмена анксиолитическое действие. У животных, получавших цитофлавин, анксиолитическое действие было более выраженным.

Ключевые слова: нарушение липидного обмена, кардиоксипин, цитофлавин, тест «Открытое поле».

COMPARATIVE STUDY OF STRESS-PROTECTIVE EFFECT OF CYTOFLAVIN AND CARDIOXIPIN ON SAMPLE EXPERIMENTAL LIPID METABOLISM DISORDERS

Vodopjanova O.A.¹, Khoroneko S. E.², Antropova N. V.¹, Rodina O.P.¹, Moiseeva I.Y.¹

¹ Penza State University, Penza, Russia (440026, Penza, Krasnaya st., 40), e-mail: cnit@pnzgu.ru

² Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia (430025, Saransk, Ul'janovast., 26) e-mail: dep-mail@adm.mrsu.ru

The research has been conducted on the ofdrugs with antioxidant activity cytoflavin and cardioxipin on the behavior of male rats of white rats with experimental lipid metabolism disorders. Experimental lipid metabolism disorders was modeled during ten days by exogenous cholesterol in a dose of 40 mg per kg and vitamin D₂. The animals were divided into the following four groups: intact, experimental lipid metabolism disorders (controlled), experimental lipid metabolism disorders with cytoflavin correction, and experimental lipid metabolism disorders with cardioxipin correction. Drugs were administered for ten days. Psycho-emotional state of the animals was assessed by studying the behavior of the test "open field". The experimental work showed that under the influence experimental lipid metabolism disorders of cytoflavin and cardioxipin showed the anxiolytic effect. The cytoflavin anxiolytic activity was more sufficient.

Keywords: lipid metabolism disorders, cardioxipin, cytoflavin, test "open field".

Введение

Заболевания, в основе которых лежит атеросклероз, представляют на данный момент колоссальную проблему практически во всех развитых странах мира, включая и Россию. Атеросклероз является ведущей причиной смерти и инвалидизации больных [5]. По меньшей мере 75-80% всех сердечно-сосудистых заболеваний так или иначе связано с атеросклерозом [1], в том числе нарушения мозгового кровообращения, ишемическая болезнь сердца (ИБС) и облитерирующие заболевания артерий нижних конечностей. В патогенезе развития и прогрессирования атеросклероза принимают участие такие факторы, как дислипидемия, дисфункция эндотелия, изменения системы гемостаза

[3]. Гиперхолестеринемия способствует развитию и прогрессированию эндотелиальной дисфункции [6]. Углубление представлений о патогенезе атеросклеротического поражения сосудов, в том числе признание роли перекисного окисления липидов в этом процессе, создало основу для включения в терапию заболеваний, вызванных атеросклерозом, препаратов с антиоксидантной активностью. Использование антиоксидантов и метаболических средств, являющихся корректорами энергетического метаболизма, является перспективным направлением в лечении хронических цереброваскулярных расстройств [2], в том числе вызванных атеросклерозом. В нашем исследовании в качестве препаратов с антиоксидантной, метаболической и цитопротекторной активностью использовались отечественные препараты кардиоксипин (30 мг метилэтилпиридинола в 1 мл раствора, ОАО «Биосинтез», Пенза) и цитофлавин (в 1 мл раствора: кислоты янтарной 100 мг, никотинамида 10 мг, рибоксина 20 мг, рибофлавина мононуклеотида 2 мг, ООО «НТФФ "ПОЛИСАН"», Санкт-Петербург).

Учитывая то, что препараты метилэтилпиридинола и цитофлавина обладают антигипоксическим и антиоксидантным действием, оказывая положительный эффект на процессы энергообразования в клетке, уменьшая продукцию свободных радикалов и восстанавливая активность ферментов антиоксидантной защиты, снижая выброс нейротрансмиттеров в условиях ишемии [4], мы предположили, что данные препараты способны повлиять на ориентировочно-исследовательские поведенческие реакции крыс в тесте «Открытое поле» на фоне экспериментального нарушения липидного обмена.

Цель работы: изучить влияние кардиоксипина и цитофлавина на поведенческие реакции крыс с экспериментальным нарушением липидного обмена при помощи теста «Открытое поле».

Материалы и методы исследования

В соответствии с поставленной целью изучено действие кардиоксипина в дозе 52,5 мг/кг и цитофлавина в объеме 1,75 мл/кг (175 мг/кг по янтарной кислоте). Исследование проведено на белых нелинейных крысах обоего пола, массой тела 180-350 г, содержащихся в стандартных условиях вивария при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (ETSN 123, Страсбург, 18 марта 1986 г.), и были одобрены локальным этическим комитетом.

Гиперхолестеринемия моделировалась в течение 10 дней путем ежедневного перорального введения масляной суспензии холестерина на растительном масле из расчета 40 мг на 1 кг

массы тела животного. С целью усиления пероксидного стресса животным вводили витамин Д₂ перорально в дозе 25 000 ЕД на 1 кг массы.

Подопытные животные были разделены нами на 4 группы. У всех экспериментальных крыс до проведения и по окончании эксперимента оценивали ориентировочно-исследовательские поведенческие реакции в тесте «Открытое поле» по стандартной методике (Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж.П., 1991 г). В ходе 3-минутного теста на основе визуального наблюдения регистрировали следующие показатели: горизонтальная активность (число пересечений сторон квадратов камеры), вертикальная активность (количество стоек), норковые реакции, число эпизодов груминга, уровень дефекации и продолжительность эпизодов замирания.

Животные в 1-й группе (N=14) на протяжении всего эксперимента находились на рационе вивария и явились интактными.

Животным 2-й (контрольной) группы (N=10) моделировали гиперхолестеринемию с помощью экзогенного холестерина и эргокальциферола и с 11-го дня эксперимента в качестве «плацебо» внутрибрюшинно вводили физраствор в объеме, эквивалентном объему вводимых исследуемых препаратов.

Животным 3-й группы (N=10) на фоне экспериментального нарушения липидного обмена проводилась коррекция нарушений при помощи кардиоксипина, который вводили с 11-го дня эксперимента в дозе 52,5 мг/кг внутрибрюшинно в течение 10 дней.

Животным 4-й группы (N=10) на фоне экспериментального нарушения липидного обмена с 11-го по 20-й день эксперимента вводили цитофлавин в объеме 1,75мл/кг (175мг/кг по янтарной кислоте) внутрибрюшинно в течение 10 дней.

Дозы были рассчитаны, исходя из максимальных разовых доз изучаемых препаратов для человека, с учетом коэффициента межвидового переноса доз.

Статистическую обработку результатов экспериментального исследования проводили с помощью пакета статистических программ: русифицированная версия программы STATISTICA 6.0 (StatSoft – Russia, 1999), BIOSTAT (S.A.Glantz, McGrawHill, перевод на русский язык – «Практика, 1998). Определялись основные статистические характеристики: среднее, стандартное квадратическое отклонение. Достоверность различий рассчитана с помощью Т-критерия Стьюдента.

Результаты обследования и обсуждение

Тест «Открытое поле» предполагает определение баланса или дисбаланса ориентировочно-исследовательского поведения и состояния страха и тревоги у животных. Предполагается, что активные перемещения по полю, выполнение стоек и заглядывание в отверстия являются показателями ориентировочно-исследовательского поведения. В то время как эпизоды

груминга, дефекации, а также замирание животного определяются его эмоциональным фоном и указывают обычно на страх и тревогу. Результаты исследования ориентировочно-исследовательского поведения крыс в тесте «открытое поле» представлены в таблице 1.

Таблица 1. Влияние кардиоксипина и цитофлавина на двигательную и исследовательскую активность крыс с экспериментальной гиперхолестеринемией в тесте «Открытое поле»

Серия	Двигательная активность			Исследовательская активность Норковые реакции (количество заглядываний в отверстия)
	Горизонтальная активность (количество пересеченных клеток)	Вертикальная активность		
		Стойки	Пристеночные стойки	
Интактные n=14	43,5±5,85	12,00± 2,04	3,00±0,68	6,86±0,27
Контроль N=10	33,86±11,29 Р _и >0,05	6,14±2,19 Р _и <0,05	1,43±0,81 Р _и <0,05	2,86±1,45 Р _и <0,05
Кардиоксипин N=10	13,0±2,65 Р _и <0,05 Р _к <0,05	2,86±1,35 Р _и <0,05 Р _к >0,05	0,43±0,20 Р _и <0,05 Р _к >0,05	4,00±2,05 Р _и <0,05 Р _к >0,05
Цитофлавин N=10	19,86±4,24 Р _и <0,05 Р _к >0,05 Р _п >0,05	5,43±1,20 Р _и <0,05 Р _к >0,05 Р _п >0,05	0,71±0,36 Р _и <0,05 Р _к >0,05 Р _п >0,05	4,71±1,61 Р _и <0,05 Р _к >0,05 Р _п >0,05

Примечание: Р_и – статистическая значимость, рассчитанная к интактным крысам; Р_к – статистическая значимость, рассчитанная к контролю, Р_п – статистическая значимость между препаратами.

Исходя из представленных в таблице 1 данных, можно сделать вывод, что в группах лабораторных животных с экспериментальным нарушением липидного обмена статистически значимо (Р_и<0,05) снижалась двигательная и исследовательская активность, при этом в отношении вертикальной активности достоверных различий между группой контроля и 3-й, 4-й группами выявлено не было, в то время как в отношении горизонтальной активности в 3-й группе снижение количества пересеченных клеток было статистически значимо (Р_к<0,05) более выраженным. Исследовательская активность статистически значимо (Р_и<0,05) снижалась во всех группах с гиперхолестеринемией, однако на фоне коррекции цитофлавином (группа №4) снижение исследовательской активности было менее выраженным, чем в группе контроля.

По итогам исследования ориентировочно-поведенческих реакций достоверных различий между группами животных, получавших цитофлавин и кардиоксипин, выявлено не было.

Результаты исследования эмоционального фона лабораторных животных представлены в таблице 2.

Таблица 2. Показатели эмоционального фона крыс с экспериментальным нарушением липидного обмена в тесте «Открытое поле».

Серия	Эмоциональность				
	Груминг		Дефекация	Замирание, с	Выход в центр
	Число подходов	Продолжительность, с			
Интактные (N=14)	3,00±0,67	14,21±3,49	1,43±0,40	79,54±9,38	0,43±0,20
Контроль (N=10)	4,0±0,98 Р _и >0,05	43,33±16,52 Р _и <0,05	1,71±0,75 Р _и >0,05	142,0±13,65 Р _и <0,05	0,14±0,14 Р _и >0,05
Кардиоксипин (N=10)	0,57±0,29 Р _и <0,05 Р _к <0,05	1,14±0,70 Р _и <0,05 Р _к <0,05	0,86±0,26 Р _и >0,05 Р _к >0,05	126,86±18,31 Р _и <0,05 Р _к >0,05	0±0 Р _и <0,05 Р _к >0,05
Цитофлавин (N=10)	0,71±0,42 Р _и <0,05 Р _к <0,05 Р _п >0,05	2,57±1,23 Р _и <0,05 Р _к <0,05 Р _п >0,05	1,43±0,53 Р _и >0,05 Р _к >0,05 Р _п >0,05	84,29±14,21 Р _и >0,05 Р _к <0,05 Р _п <0,05	0,71±0,36 Р _и >0,05 Р _к <0,05 Р _п <0,05

Примечание: Р_и – статистическая значимость, рассчитанная к интактным крысам; Р_к – статистическая значимость, рассчитанная к контролю, Р_п – статистическая значимость между препаратами.

Исходя из данных, представленных в таблице, общая продолжительность эпизодов груминга статистически значимо (Р_и<0,05) возростала в группе контроля, в то время как в 3-й и 4-й группах количество подходов и продолжительности груминга статистически значимо (Р<0,05) снижалось по отношению к интактной группе и к группе контроля. Эпизоды замирания в группе животных, получавших цитофлавин, длились статистически значимо (Р_к<0,05) меньше, чем в группе контроля и в группе животных, получавших кардиоксипин. Выходы в центр в 4-й группе регистрировались статистически значимо (Р<0,05) чаще, чем во 2-й и 3-й группах. Статистически значимых различий между 2-й и 3-й группами в отношении длительности эпизодов замирания и общего количества выходов в центр зафиксировано не было (Р_к>0,05).

Выводы

1. Нарушение липидного обмена у животных приводило к статистически значимому ($P_i < 0,05$) снижению горизонтальной и вертикальной двигательной и исследовательской активности в тесте «Открытое поле».
2. Кардиоксипин и цитофлавин оказывали анксиолитическое действие, выразившееся в достоверном по отношению к группе контроля уменьшении подходов и продолжительности груминга в группе крыс, получавших кардиоксипин, и в уменьшении подходов и продолжительности груминга, снижении продолжительности эпизодов замирания и увеличении количества выходов в центр в группе крыс, получавших цитофлавин.
3. Цитофлавин оказывал более выражено анксиолитическое действие, чем кардиоксипин, о чем свидетельствуют статистически значимые ($P_p < 0,05$) различия в продолжительности эпизодов замирания и частоте выходов в центр.

Список литературы

1. Горбачева Ф.Е. Ишемический инсульт вследствие расслоения внутренней сонной артерии / Ф.Е. Горбачева, Г.М. Натяжкина, О.Е. Зиновьева, О.И. Анильчева // Инсульт: приложение к Журналу неврологии и психиатрии. -2002. - Вып.6. - С.29-31.
2. Лобзая С.В. Вертеброгенные цереброваскулярные расстройства: автореф. дис. ... д-ра мед.наук. – СПб., 2001.
3. Пушкарева Т.А., Корякина Л.Б., Рунович А.А., Курильская Т.Е. Критерии оценки дисфункции эндотелия и пути ее коррекции (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. – 2008. – № 5. – С. 3–7.
4. Романцов М.Г. Экспериментальное изучение препаратов на основе янтарной кислоты – потенциальное применение в клинике. - СПб., 2001. – С. 21-24.
5. Творогова М.Г. Липидный состав липопротеидов высокой плотности при наследственных гиперлиппротеинемиях / М.Г. Творогова, П.Н. Васин, Т.А. Рожкова, В.В. Кухарчук, В.Н. Титов // Вопросы медицинской химии. - 1998. - Т.44. - №5. - С.452-459.
6. Laurent S., Cockcroft J., Bortel L. Van Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications // Eur. heart j. – 2006. – Vol. 27. – P. 2588–2605.

Рецензенты:

Сипров А.В., д.м.н. профессор кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», г.Саранск.

Микуляк Н.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой «Физиология человека» ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет», г. Пенза.