

ИЗУЧЕНИЕ НЕЙРОТРОПНЫХ СВОЙСТВ ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Залялютдинова Л.Н.¹, Фардиева Р.М.², Гайнетдинова А.Н.¹

¹ГБОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия (420012, г. Казань ул. Бутлерова, 49), e-mail: imanaev@mail.ru

С целью выявления новых свойств и расширения показаний к применению липоевой кислоты были изучены ее нейротропные свойства в эксперименте. Исследования нейротропной активности липоевой кислоты в дозах, находящихся в диапазоне от 1/10 до 1/100 от ДЛ50, проведены в экспериментах на 297 белых нелинейных мышах с использованием следующих поведенческих моделей: метода «открытое поле», теста «вращающийся стержень», теста «поведенческого отчаяния». Мнемотропное действие липоевой кислоты исследовали на модели «Т-образный лабиринт» с положительным подкреплением. При экспериментальном изучении выявлена зависимость нейротропного действия липоевой кислоты от использованных доз. Липоевая кислота в дозах 10,7 мг/кг и 3,2 мг/кг увеличивала двигательную-исследовательскую активность у мышей, улучшала обучаемость и проявляла антидепрессивную активность при пероральном применении. Вместе с тем, липоевая кислота в дозе 32 мг/кг, что соответствует 1/10 от ДЛ50, оказывала угнетающее действие на центральную нервную систему и не влияла на формирование условного рефлекса с положительным пищевым подкреплением, не нарушала координацию движений и не оказывала мышечно-расслабляющего действия.

Ключевые слова: липоевая кислота, нейротропные свойства, поведенческие модели, мыши

THE STUDY OF NEUROTROPIC PROPERTIES OF LIPOIC ACID IN THE EXPERIMENT

Zalyalyutdinova L.N.¹, Fardieva R.M.², Gaynetdinova A.N.¹

¹Kazan State Medical University, Kazan, Russia (420012, Kazan, Butlerov street, 49), e-mail: imanaev@mail.ru

With a view to reveal new properties and extend the indications for lipoic acid administration, we studied its neurotropic activity. Orally administrated doses ranged from 1/10 to 1/100 DL50, the experiments involved 297 white non-linear mice and included the following behavior models: open field, «вращающийся стержень», теста «поведенческого отчаяния». Mnemotropic activity of lipoic acid was studied on T-labyrinth with positive stimulus - food reward. The experiments revealed the dose-dependent manner of lipoic acid neurotropic activity. Lipoic acid dosed 10,7 mg/kg and 3,2 mg/kg increased physic-research activity, improved educability and had antidepressive effect at oral administration in mice. In contrast to these findings, lipoic acid dosed 32 mg/kg that is 1/10 DL50 suppressed central nervous system and did not affect the formation of acquired reflex with food reward although it did not affect coordination and was free of muscle relaxant effect.

Keywords: lipoic acid, neurotropic features, behavioral models, mice

α -липоевая кислота (тиоктовая кислота, окисленная форма) и дигидролипоевая кислоты (дигидротиоктовая кислота, восстановленная форма) являются эндогенными, липидорастворимые, серосодержащие митохондриальные кофакторы, которые широко распространены в клетках организма, в том числе в нейронах. Они важны в цикле лимонной кислоты и в энергетическом обмене. Кроме того, они действуют как «ловушки» свободных радикалов и участвуют в окислительно-восстановительных реакциях, которые модулируют сульфгидрильные (тиоловые) группы в различных белках [10]. Липоевая кислота взаимодействует с другими антиоксидантами, участвует в их рецикле (витамины Е, С, глутатион), тем самым поддерживает как липидный так и водный антиоксидантный статус клеток [1]. Синтетическая липоевая кислота в практической медицине применяется в

качестве гепатопротектора и для лечения диабетической нейропатии [2]. Нейропротекторные свойства липоевой кислоты реализуются за счет улучшения функции митохондрий, стимуляции роста аксонов и влияния на аксональный транспорт, а так же связывания и выведения из клетки свободных радикалов [3,4]. Есть данные, что липоевая кислота увеличивает в головном мозге продукцию ацетилхолина, путем активации холинацетилтрансферазы и увеличения продукции ацетил-коэнзима А, уменьшает церебральный оксидативный стресс [1,4], однако, нейротропные свойства липоевой кислоты экспериментально мало изучены.

Цель исследования

Целью настоящего исследования являлось изучение нейротропных свойств липоевой кислоты в эксперименте.

Материал и методы исследования

Объектом исследования явилась отечественная субстанция липоевой (тиоктовой) кислоты производства ОАО Марбиофарм, Россия. В соответствии с задачами исследования применялись следующие препараты сравнения: пирацетам (ПИК Фарма, Россия), имипрамин (Egis Pharmaceutical, Венгрия), мексидол (Фармсофт, Россия). Фармакологические исследования нейротропных свойств липоевой кислоты в дозах 32 мг/кг, 10,7 мг/кг, 3,2 мг/кг проведены на 297 белых беспородных мышах массой 18-22 гр. Исследования одобрены локальным этическим комитетом Казанского ГМУ. Для изучения влияния липоевой кислоты на поведение животных использовали метод «открытое поле» (установка OpenScience, Россия) [6]. Мышь помещали в камеру круглой формы и в течение 5 минут регистрировали число пересеченных линий по периферии (горизонтальная двигательная активность), число подъемов на задние лапки с опорой и без опоры (вертикальная двигательная активность), число обследованных отверстий (исследовательская активность), число болюсов дефекаций, количество приближений передних лап ко рту и их облизывание (груминг). Возможное мнемотропное действие липоевой кислоты исследовали на модели «Г-образный лабиринт» с положительным подкреплением (установка OpenScience, Россия) [6]. До начала эксперимента липоевая кислота и препараты сравнения вводили в течение 7 дней перорально. На этапе обучения мышей (с пищевой депривацией в течение 48 часов) помещали в стартовый отсек «Г-образного лабиринта», в одном из рукавов которого находилась кормушка с пищей. Через 30-60 секунд после посадки открывали дверцу стартового отсека. Щелчок открывания дверки служил условным раздражителем. В качестве критерия выработки рефлекса выбирали 8 правильных подходов из 10 предъявляемых. Во время эксперимента регистрировали время подхода животного от стартового отсека до кормушки. Для оценки влияния липоевой кислоты на мышечный тонус и координацию

движения использовали тест «вращающийся стержень», регистрировали время удержания животных на стержне при постоянном ускорении вращения. [6]. Липоевую кислоту вводили перорально в течение 7 дней в дозах 32; 10,7; 3,2 мг/кг. Влияние липоевой кислоты на длительность иммобилизации оценивали в тесте «поведенческого отчаяния» [6,7,9]. До проведения эксперимента опытным животным в течение 7 дней вводили и препараты сравнения –антидепрессант(имипрамин) и ноотропы (пирацетам и мексидол). Животных помещали в цилиндр, диаметром 10 см, высотой 25 см, на 1/3 цилиндр заполняли водой температурой 27°C(±10). В течение 5 минут в секундах фиксировали общую длительность неподвижности животного (время иммобилизации). Животные контрольных групп получали 1 % крахмальную слизь в эквивалентном объеме. Количество животных в группе составляло от 8-10. Исследования проводились в соответствии с требованиями «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» - Фармакологический комитет, МЗ РФ, Москва, 2005.

Результаты обрабатывали методами вариационной статистики с применением параметрических (t- критерия Стьюдента) и непараметрических критериев-критерия Манна-Уитни для межгрупповых значений. За достоверные различия принимали значения $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Метод «открытое поле» использовали для выявления стимулирующего или угнетающего действия тиоктовой кислоты на ориентировочную реакцию животных [8]. На модели «открытое поле» было выявлено, что при пероральном введении липоевая кислота оказывает разнонаправленное действие на ориентировочно-исследовательское поведение животных в зависимости от дозы. В дозе 32 мг/кг липоевая кислота угнетает исследовательскую (уменьшает число заглядываний в отверстия) и вертикальную двигательную активность (число стоек), в дозе 10,7 мг/кг - увеличивает горизонтальную двигательную активность мышей (увеличивает число пересеченных линий), а в дозе 3,2 мг/кг увеличивает двигательную и исследовательскую активность экспериментальных животных (таблица 1).

Таблица 1

Влияние липоевой кислоты в различных дозах на ориентировочно-исследовательскую реакцию мышей через 1 час после перорального введения

Показатели за 5 мин наблюдения	Контроль	ЛК 32мг/кг	ЛК 10,7 мг/кг	ЛК 3,2мг/кг
	M±m	M±m	M±m	M±m
Число пересеченных линий	61,0±1,4	73,20±7,42	94,30±10,78*	96,82±8,82*

Число вертикальных вставаний	18,90±0,57	14,10±1,04*	23,80±2,84*	25,91±1,41*
Число заглядываний	25,70±1,64	16,88±0,59*	21,50±0,62	35,6±1,12*
Число болюсов дефекаций	0,40±0,15	0,20±0,14	0,30±0,15	0,22±0,12
Груминг	3,90±0,33	0,71±0,11*	1,50±0,11*	2,8±0,10*

Примечание: * $p < 0,05$ - разница достоверна по отношению к контролю (1% крахмальная слизь) по критериям Манна-Уитни и по критерию Стьюдента

На модели «Т-образный лабиринт» липоевая кислота, так же как и пирацетам, и мексидол, оказывала положительное влияние на обучаемость белых мышей (таблица 2).

Таблица 2

Влияние липоевой кислоты и препаратов сравнения на формирование условного рефлекса с положительным подкреплением на модели «Т-образный лабиринт»

Группы животных	Время подхода к кормушке, в сек
Группа контроля	31,85±1,5
Липоевая кислота (32 мг/кг)х 7-7	30,83±3,5
Липоевая кислота (10,7 мг/кг)х7-7	9,87 ± 0,9*
Липоевая кислота (3,2 мг/кг)х7-7	14,87±0,8*
Мексидол (100 мг/кг)х7-7	22,57±1,1*
Пирацетам (150 мг/кг)х7-7	21,50±1,5*

Примечание: * - разница достоверна по отношению к контролю (1% крахмальная слизь) при $p < 0,05$ по критериям Стьюдента и Манна-Уитни.

Наилучший эффект был получен при применении липоевой кислоты в дозе 10,7 мг/кг. При этом время подхода опытных животных к кормушке сокращалось в 3,2 раза (10,7 мг/кг) и в 2,1 раза (3,2 мг/кг) в сравнении с контролем. Липоевая кислота в дозе 32 мг/кг не оказывала влияния на формирование условного рефлекса с положительным пищевым подкреплением.

Результаты наших исследований по оценке мнемотропной активности тиоктовой кислоты согласуются с данными Биличенко С.В., которые свидетельствуют, что α – липоевая (тиоктовая) кислота в дозе 20 мг/кг оказывает позитивное действие в отношении нарушений, связанных с извлечением памятного следа (механизмы долговременной памяти) на модели УРПИ у крыс с декомпенсированным сахарным диабетом [5]. Пероральное введение

липовой кислоты в дозе 32 мг/кг и 10,7 мг/кг не оказывало мышечно-расслабляющего действия, не влияло на координацию движений, а в дозе 3,2 мг/кг липовая кислота увеличивала время удержания на вращающемся стержне с $13,5 \pm 1,1$ (сек) в контроле до $19,4 \pm 1,9$ (сек) ($p \leq 0,05$).

Липовая кислота в дозах 10,7 мг/кг и 3,2 мг/кг в тесте «поведенческого отчаяния» так же, как и пираретам, мексидол, имипрамин, проявляла антидепрессивную активность. Обнаружено достоверное уменьшение продолжительности иммобилизации по сравнению с контрольной группой (таблица 3).

Таблица 3

Влияние липовой кислоты, мексидола, пираретама и имипрамина на продолжительность иммобилизации животных в тесте «поведенческого отчаяния»

Группы животных	Продолжительность иммобилизации, в сек ($M \pm m$)	Продолжительность иммобилизации в % к контролю
Контроль (крахмальная слизь)	$185,4 \pm 5,12$	100,0
Мексидол 100 мг/кг х7-7	$143,5 \pm 4,58^*$	77,4
Пираретам 150 мг/кг х7-7	$135,4 \pm 6,43^*$	73,0
Имипрамин 10 мг/кг х7-7	$126,0 \pm 4,73^*$	68,0
Липовая кислота 32 мг/кг х7-7	$220,8 \pm 3,78^*$	119,1
Липовая кислота 10,7 мг/кг х7-7	$145,8 \pm 6,43^*$	78,6
Липовая кислота 3,2 мг/кг х7-7	$155,0 \pm 3,36^*$	83,6

Примечание: * - разница достоверна по отношению к контролю (1% крахмальная слизь) при $p < 0,05$ по критериям Стьюдента и Манна-Уитни.

Считается, что укорочение периодов неподвижности позволяют констатировать у изучаемого препарата наличие антидепрессивных свойств. Эффективность препарата при курсовом приеме характерна для типичных антидепрессантов [7]. Липовая кислота в дозе 32 мг/кг увеличивала продолжительность иммобилизации на 19,1% по сравнению с контролем (таблица 3).

Таким образом, при экспериментальном изучении выявлена зависимость нейротропного действия липовой кислоты от использованных доз. Липовая кислота при пероральном применении в дозах, соответствующих 1/30 и 1/100 DL50 (10,7 мг/кг; 3,2 мг/кг) увеличивала двигательную-исследовательскую активность у мышей, улучшала обучаемость и проявляла антидепрессивную активность. В дозе 32 мг/кг липовая кислота оказывала угнетающее действие на ЦНС и не влияла на обучаемость мышей.

Выводы

1. Липовая кислота в дозах, соответствующих 1/30 и 1/100 DL50, увеличивает двигательную-исследовательскую активность у мышей, не оказывает мышечно-расслабляющего действия и

не изменяет координацию движений; обладает мнемотропной активностью, улучшает процессы обучения у мышей на модели «Г-образный лабиринт», сокращая время подхода к кормушке в 3,2 и 2,1 раза соответственно; проявляет антидепрессивную активность, сокращая время иммобилизации мышей на модели «поведенческое отчаяние» на 21,4 и 16,4% по сравнению с контролем соответственно.

2. Липоевая кислота дозе, соответствующей 1/10 DL50, подавляет двигательную исследовательскую активность у мышей, увеличивает время иммобилизации животных в тесте «поведенческое отчаяние».

Список литературы

1. Аметов А.С., Строков И.А., Самигуллин Р.Р. Антиоксидантная терапия диабетической полиневропатии // РМЖ. 2005. Т. 13. № 6. С. 339–343.
2. Афонина Ж.А., Строков И.А., Аметов А.С., Войчик Э.А. Лечение тоннельных невропатий рук у больных сахарным диабетом // РМЖ. 2008. 16 (12): 1621–5.
3. Ахапкина В.И., Воронина Т.А. Спектр фармакологических эффектов Фенотропила // Фарматека. 2005. №13. С.19–25.
4. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Лечение сахарного диабета и его осложнений. М.: Изд-во Медицина. 2005. -512с.
5. Биличенко С.В. Антиоксидантная терапия сахарного диабета и его осложнений (экспериментальное исследование): Автореферат дис. канд. мед. наук.- С.-Петербург, 2010.- 26с.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ // Под общей редакцией члена-корр. РАМН, профессора Р.У. Хабриева. 2-изд., перераб. и доп.- М.:ОАО «Издательство «Медицина», 2005.- 832 с.: ил.
7. Русаков Д.Ю., Вальдман А.В. Применение плавательного теста для выявления антидепрессивной активности при однократном и хроническом введении веществ // Фармакол. и токсикол. — 1983. — № 5. — С. 107-111
8. Markina N.V. Exploratory behaviour of F2 crosses of mouse lines selected for different brain weight: A multivariate analysis / N.V. Markina, R.M. Salimov, I.I Poletaeva // Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat. - 2004. - V28. - №3. - P.583-589.
9. Porsolt, R.D. Behavioural despair in mice: A primary screening test for antidepressants / R. D.Porsolt, A. Berlin, M. Jalfre //Arch. Intern. Pharmacodyn. 1977. V. 229. P. 327.
10. Smith AR, Shenvi SV, Widlansky M, Suh JH, Hagen TM. Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. Curr Med Chem. 2004;11(9):1135–46. [[PubMed](#)]

Рецензенты:

Гараев Р.С., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Казань;

Зиганшин А.У., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии с курсами фармакогнозии и ботаники фармацевтического факультета ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Казань.