

ВЛИЯНИЕ НОВОГО АДАМАНТАНОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ГАМК НА УРОВЕНЬ НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО ДЕФИЦИТА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

**Ковалев Н.С.¹, Бакулин Д.А.¹, Куркин Д.В.¹, Абросимова Е.Е.¹, Саблина Л.А.¹,
Воронцов М.Ю.¹, Фомичев Е.А.¹, Тюренков И.Н.¹, Климошкин Ю.Н.², Бормашева К.М.²,
Каримова А.Ю.², Ткаченко И.М.²**

¹ФГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России, НЦИЛС, Волгоград, e-mail: mbfdoc@gmail.com;

²ФГБОУ ВО «СамГТУ», Самара, e-mail: klimochkin.yn@samgtu.ru

Изучить влияние нового адамантанового производного ГАМК на уровень неврологического дефицита в условиях экспериментального нарушения мозгового кровообращения. Исследование проводилось на самцах крыс, которым моделировали нарушение мозгового кровообращения (НМК) посредством перевязки общих сонных артерий. Через 1 сутки после операции была проведена оценка уровня неврологического дефицита и сформированы экспериментальные группы, которые 7 дней получали лечение. Уровень неврологического дефицита после лечения оценивали по комплексу поведенческих тестов, в которых оценивали двигательную и исследовательскую активности, координацию, сенсорно-моторную функцию и кратковременную память. У животных на фоне НМК было выявлено статистически значимое снижение двигательной и исследовательской активности, нарушение когнитивных и сенсорно-моторных функций, а также затруднения координации движений. В группах, получавших исследуемое соединение и цитиколин, было зафиксировано сопоставимое статистически значимое улучшение уровня координации, восстановление сенсорно-моторных и когнитивных функций. Исследуемое адамантановое производное ГАМК при курсовом введении животным с НМК, вызванным перевязкой общих сонных артерий, сопоставимо с цитиколином снижало выраженность неврологического дефицита и способствовало восстановлению когнитивных функций.

Ключевые слова: нарушение мозгового кровообращения, ГАМК, адамантан, цитиколин, церебропротекция.

INFLUENCE OF A NOVEL ADAMANTANE DERIVATIVE OF GABA ON THE NEUROLOGICAL DEFICIT OF RATS WITH BRAIN ISCHEMIA

**Kovalev N.S.¹, Bakulin D.A.¹, Kurkin D.V.¹, Abrosimova E.E.¹, Sablina L.A.¹,
Vorontsov M.Yu.¹, Fomichev E.A.¹, Tyurenkov I.N.¹, Klimochkin Yu.N.², Bormasheva K.M.²,
Karimova A.Yu.², Tkachenko I.M.²**

¹Volgograd State Medical University, Scientific Center for Innovative Medicines, Volgograd, e-mail: mbfdoc@gmail.com;

²Samara State Technical University, Samara, e-mail: klimochkin.yn@samgtu.ru

Study of the influence of a novel adamantane derivative of GABA on the neurological deficit of rats with brain ischemia. The study was conducted on male rats, with brain ischemia induced by bilateral common carotid artery occlusion. One day after the operation, the level of neurological deficit was assessed according and comparable experimental groups were formed for 7 days, respectively as therapy. The level of neurological deficit after treatment was assessed by a set of tests in which motor and exploratory activity, coordination, sensory-motor function and short-term memory were assessed, respectively. In Control group animals a statistically significant decrease in motor and exploratory activity, impaired cognitive and sensory motor functions, as well as difficulties in coordinating movements were revealed. In the groups that were administered the test compound and citicoline, there was a comparable statistically significant improvement in the level of coordination, recovery of sensory-motor functions and cognitive functions. The studied adamantane derivative of GABA as well as citicoline, when administered in a course to animals with brain ischemia induced by bilateral common carotid artery occlusion, reduced the severity of neurological deficit and contributed to the restoration of cognitive functions.

Keywords: brain ischemia, GABA, adamantane, citicoline, neuroprotection.

Инсульт является одной из самых распространенных причин смертности населения во всем мире. Резкое эпидемиологическое увеличение распространенности данного патологического процесса (за последние 20 лет) связывают с увеличением средней

продолжительности жизни человека. Нарушение мозгового кровообращения и развивающиеся на фоне патологии когнитивные и моторные нарушения являются частой причиной утраты работоспособности и инвалидизации населения, что приносит значимый экономический ущерб государству и обществу [1].

На фоне различных цереброваскулярных заболеваний достаточно часто формируются тревожно-депрессивные расстройства. Множество современных исследований предоставляют все больше доказательств взаимосвязанности данных патологических процессов. Сформировавшееся у человека депрессивное расстройство может стать причиной развития сердечно-сосудистых заболеваний, инсульта и транзиторных ишемических атак, вызванных нейровоспалительными процессами и активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, приводящей к снижению выработки серотонина, нарушению функционирования симпатической нервной системы на фоне стресса. Цереброваскулярные заболевания представляют высокий риск развития депрессивного расстройства, связанного с возможной инвалидизацией, утратой трудоспособности, изменением социального статуса и возможным отсутствием социальной поддержки. Постинсультная депрессия наиболее часто развивается в течение первых месяцев после развившегося патологического процесса, однако риск развития депрессивного расстройства остается высоким и сохраняется в течение первых нескольких лет. Наличие сопутствующего расстройства значительно осложняет терапию основного заболевания, снижает ее эффективность и является фактором повышения рисков смертности. За последние два десятилетия был достигнут значительный прогресс в выявлении и лечении депрессивного расстройства, сформировавшегося после инсульта, а включение антидепрессантов в терапию данных пациентов будет наблюдаться все чаще. Комбинированная терапия положительно сказывается на динамике восстановления, улучшения моторных и когнитивных функций, а также значительно снижает уровень смертности среди данной группы пациентов [1].

Для устранения последствий нарушения мозгового кровообращения в медицинской практике используется комплексная фармакотерапия, направленная на замедление процесса повреждения ткани головного мозга, приводящая к морфологическому и метаболическому восстановлению нервной ткани и её окружения. В качестве терапии используется большой пул препаратов: антиагреганты, церебральные вазодилататоры, антиоксиданты, антигипоксанты и др. [2].

Множество исследований указывает на эффективность производных ГАМК (линейной и циклической) в коррекции последствий нарушений мозгового кровообращения. Данные препараты обладают широким спектром фармакологической активности (вазодилатирующая, антиоксидантная, антигипоксическая, противосудорожная и ноотропная) и высоким уровнем

безопасности. Многие фармакологические свойства, характерные для данной группы препаратов, могут успешно применяться для коррекции как острых, так и отдаленных последствий нарушения мозгового кровообращения и подчеркивают перспективность проведения исследований в данном направлении [3]. Фармакологическая активность линейных и циклических производных ГАМК в значительной степени определяется способностью прохождения через гемато-энцефалический барьер, и добавление лиофильного фрагмента часто значительно повышало активность основной структуры (фенибут, толибут, баклофен, фонтурацетам) [3; 4]. С этой позиции привлекает внимание структура адамантана, которая благодаря своей липофильности не только повышает проницаемость молекулы через гистогематические барьеры и снижает скорость элиминации, но и обладает самостоятельной фармакологической активностью (актопротекторная, антидепрессантная, противодементная, противосудорожная и др.) [5; 6].

У представленного в данной статье адамантанового производного ГАМК (ВКМ-22) в предыдущих исследованиях было выявлено антидепрессантное и ноотропное действие, которое было обусловлено влиянием на дофамин- и ГАМК-ергическую систему. Это сделало целесообразным исследование его влияния на уровень неврологического дефицита (сенсорно-моторную и когнитивную функции) в условиях экспериментальной ишемии головного мозга, учитывая свойственные для производных ГАМК и адамантана ноотропное и противосудорожное действие.

Цель исследования: изучить влияние нового адамантанового производного ГАМК на уровень неврологического дефицита в условиях экспериментального нарушения мозгового кровообращения.

Материал и методы исследования

Исследование проведено на 40 беспородных самцах крыс возрастом 6 месяцев и массой 280-320 г, (НИИ ГТП, г. Волгоград). Содержание животных и все манипуляции с ними выполняли с соблюдением всех правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (Приказ МЗ РФ от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», ГОСТ 33044-2014.). Исследование было одобрено локальным этическим комитетом (Региональный исследовательский этический комитет Волгоградской области, регистрационный номер: ИРБ 00005839 IORG 0004900 (OHRP)) (справка № 2021/034 от 19.04.2021 года). Количество животных в группе (n=10) соответствовало рекомендациям по проведению доклинических исследований лекарственных средств [7]. Исследуемое соединение синтезировано на кафедре органической химии (ФГБОУ ВО «СамГТУ», Самара).

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

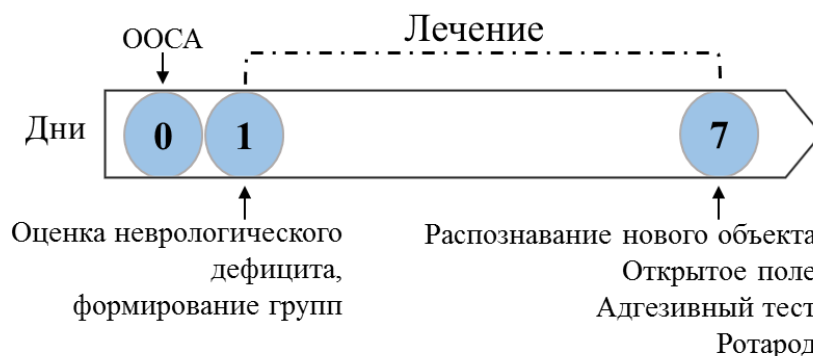


Рис. 1. Дизайн эксперимента, ООСА – окклюзия общих сонных артерий

Нарушение мозгового кровообращения моделировалось посредством одномоментной двусторонней необратимой окклюзии общих сонных артерий [3]. В качестве наркоза использовалась комбинация золетила 20 мг/кг (Zoletil®100, Valdepharm, France) и ксилазина 8 мг/кг (Xyla, Interchemie, Netherlands), которая не снижает артериальное давление, что позволяет добиться единичной гибели на данной модели. Спустя 24 часа после хирургического вмешательства проводилась оценка выраженности неврологического дефицита при помощи шкалы McGraw [8]. После проведения оценки выраженности неврологического дефицита были сформированы следующие экспериментальные группы (n=10):

- ложнооперированные (ЛО) животные;
- «НМК+NaCl», получавшие в качестве лечения физ. р-р (0,5 мл/100 г массы тела);
- «НМК+ВКМ-22», получавшие исследуемое соединение (14 мг/кг);
- «НМК+цитиколин», получавшие перорально препарат цитиколин (500 мг/кг).

Доза исследуемого соединения была выбрана как наилучшая по результатам предыдущих исследований, доза препарата сравнения была выбрана как наиболее эффективная по литературным данным [9]. Продолжительность терапии составляла 7 суток.

После завершения курса терапии состояние животных оценивалось в батарее поведенческих тестов. В тесте «Открытое поле» (установка производства НПК «Открытая наука», Россия, продолжительность 3 минуты) оценивалась двигательная активность (количество пересеченных грызуном квадратов) и ориентировочно-исследовательская активность (коэффициент равный сумме совершенных стоек и количества заглядывания в отверстия установки) [3].

В тесте «Ротарод» (установка производства ООО «Нейроботикс», Россия) по продолжительности удержания на вращающемся (25 оборотов в минуту) стержне оценивалась координация движений [10].

В «Адгезивном тесте» (продолжительность 3 минуты) оценивалась сенсорно-моторная функция животных, в качестве основного показателя учитывался латентный период обнаружения и удаления инородного объекта (матерчатый пластырь 5x5 мм) с ладонной поверхности передних лап.

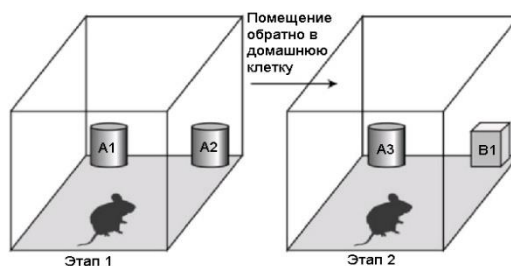


Рис. 2. Схема проведения теста «Распознавание нового объекта»

В тесте «Распознавание нового объекта» (РНО) оценивалось состояние когнитивных функций животных (кратковременной памяти). В процессе тестирования с помощью секундомера фиксировалось суммарное время исследования объекта (цилиндр или куб высотой 10-12 см), которое выражалось в обнюхивании, лизании и покусывании. Тест проводился в два этапа. На первом этапе (ознакомление) животное помещали в чистую клетку (545x395x200 мм) с двумя одинаковыми объектами, на втором этапе (тестирование) также помещали в эту же клетку, но один из объектов (цилиндр) заменяли новым (куб). Продолжительность каждого этапа составляла 3 минуты, а промежуток между этапами – 60 минут. В качестве основного показателя рассчитывался индекс дискриминации (время, затраченное на изучение нового объекта минус время, затраченное на изучение старого объекта на этапе тестирования).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы MS Excel 2019. Тип распределения определяли с использованием критерия Шапиро-Уилка, сравнение групп осуществляли по критериям Краскела-Уоллиса и Дана. Данные представлены в виде среднего, медианы и интерквартильного интервала. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В тесте «Открытое поле» у животных с нарушением мозгового кровообращения было выявлено статистически значимое снижение двигательной (на 49%) и ориентировочно-исследовательской активности (на 86%) в сравнении с группой ложнопериоперированных (ЛО) животных (рис. 3А). Среди групп животных, получавших в качестве лечения соединение ВКМ-22 и цитиколин, наблюдалась тенденция к повышению двигательной активности в сравнении с группой «НМК+NaCl». Однако статистически значимо отличался только уровень ориентировочно-исследовательской активности. В группе, получавшей ВКМ-22, показатель

ориентировочно-исследовательской активности в сравнении с группой, не получавшей лечения («НМК+NaCl»), увеличился на 55%, а в группе, получавшей референтный препарат сравнения цитиколин («НМК+цитиколин»), показатель ориентировочно-исследовательской активности превышал группу контроля на 50%.

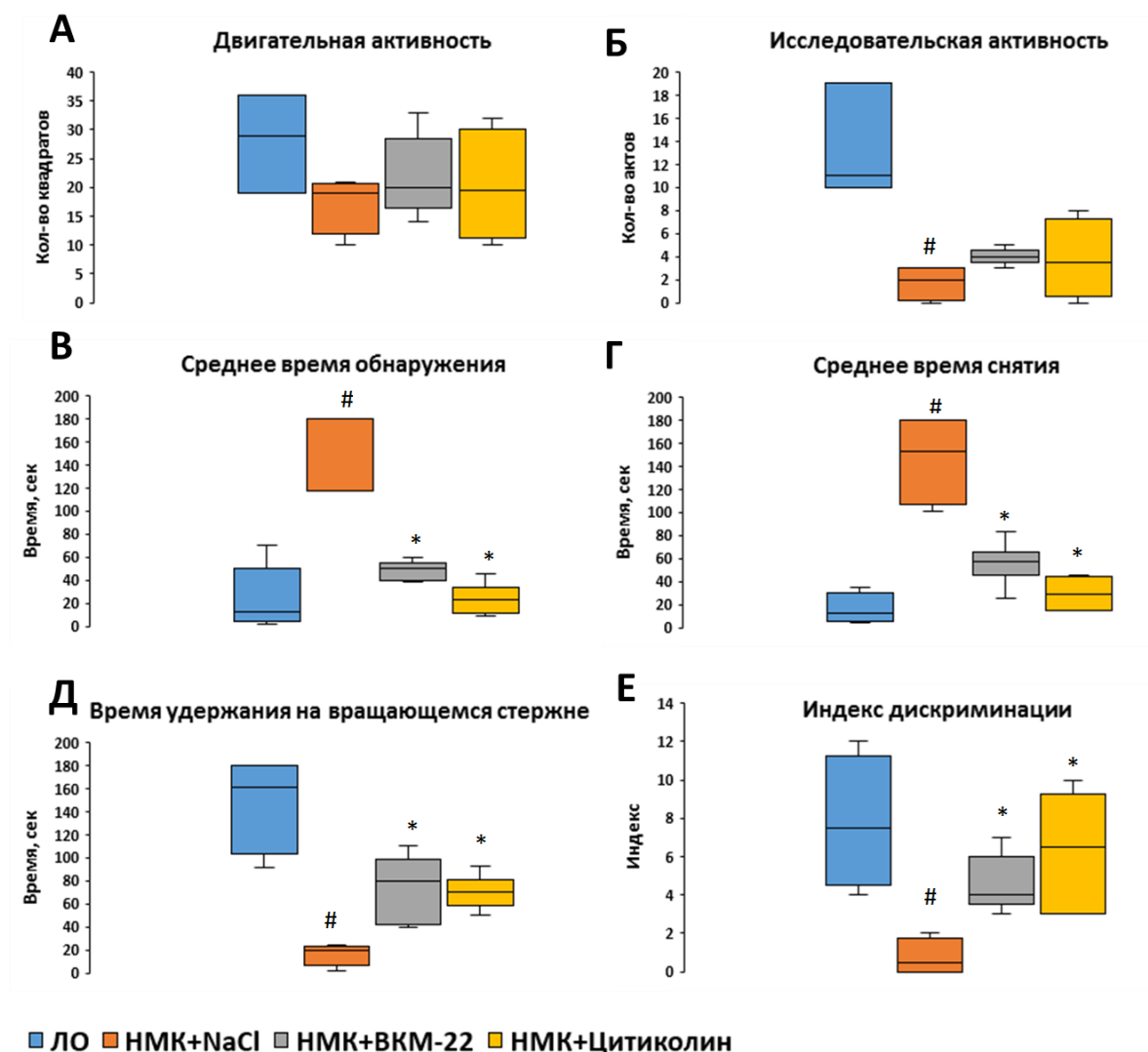


Рис. 3. Показатели поведения животных в тесте (А) и (Б) - «Открытое поле», (В) и (Г) - «Адгезивный тест», (Д) - «Ротарод», (Е) - «Распознавание нового объекта»

Примечание: # – различия статистически значимы относительно группы «ЛО» при $p < 0,05$;
* – различия статистически значимы относительно группы «НМК+NaCl» при $p < 0,05$.

В тесте «Ротарод» у животных, получавших в качестве лечения физиологический раствор «НМК+NaCl», было выявлено выраженное нарушение координации движений, приводящее к снижению продолжительности удержания на вращающемся стержне на 88% в сравнении с ложнооперированной группой (рис. 3Б). А в группах животных, получавших ВКМ-22 и цитиколин, данный показатель статистически значимо превышал результаты животных, не получавших лечение («НМК+NaCl»), на 73% и 68% соответственно.

В «Адгезивном тесте» выраженные сенсорно-моторные нарушения у контрольных животных («НМК+NaCl») замедляли скорость обнаружения (на 81%) и удаления стикера (на 76%) с ладонной поверхности передних лап в сравнении с ложнооперированной группой (рис. 3В). У животных, получавших исследуемое соединение ВКМ-22, в сравнении с группой, не получавшей лечение («НМК+NaCl»), скорость обнаружения инородного объекта была быстрее на 46%, а скорость удаления объекта сокращалась на 50%. В группе животных, получавших в качестве лечения цитиколин, скорость обнаружения стикера увеличивалась на 57%, а скорость удаления стикера с ладонной поверхности передних лап на 45% в сравнении с группой, получавшей в качестве лечения физиологический раствор («НМК+NaCl»).

В тесте «Распознавание нового объекта» на этапе тестирования, когда животное помещали в клетку со знакомым и новым объектом, животные, не получавшие лечения, одинаковые промежутки времени затрачивали на исследование обоих объектов, не отдавая предпочтения новому, что указывает на выраженные нарушения кратковременной памяти на фоне патологического процесса. В то же время животные, получавшие соединение ВКМ-22 и препарат сравнения («НМК+цитиколин»), отдавали большее предпочтение новому объекту, что указывает на сохранение памятного следа с этапа ознакомления (улучшение когнитивных функций у животных с ишемией головного мозга на фоне лечения).

Заключение

Исследуемое адамантановое производное ГАМК соединение ВКМ-22 при курсовом введении в условиях нарушения мозгового кровообращения значительно снижало выраженность неврологического дефицита, повышая продолжительность удержания на вращающемся стержне в тесте «Ротарод» и сокращая латентный период обнаружения и удаления стикера с ладонной поверхности передних лап в «Адгезивном тесте». Также введение животным с нарушением мозгового кровообращения адамантанового производного ГАМК способствовало восстановлению когнитивной функции, повышая ориентировочно-исследовательскую активность в тесте «Открытое поле» и индекс дискриминации в тесте РНО. С учетом имеющихся данных об антидепрессантной и ноотропной активности адамантановое производное ГАМК представляет интерес для дальнейшего исследования в целях разработки на его основе средства для коррекции последствий нарушения мозгового кровообращения, в том числе у пациентов с тревожно-депрессивными настроениями.

Список литературы

1. Концевая А.В., Драпкина О.М., Баланова Ю.А., Имаева А.Э., Суворова Е.И., Худяков М.Б. Экономический ущерб сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации в 2016 году // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. 2018. Т. 14. № 2. С. 156-166.
2. Клинические рекомендации по ведению больных с ишемическим инсультом и транзиторными ишемическими атаками. М., 2017. 92 с.
3. Волотова Е.В., Филина И.С., Бакулин Д.А., Куркин Д.В., Тюренков И.Н. Нейропротекторное действие фенибута и нейроглутама при экспериментальной ишемии головного мозга на фоне измененной иммунореактивности // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2016. Т. 79. № 4. С. 18-25.
4. Вигоров А.Ю., Краснов В.П., Низова И.А., Садретдинова Л.Ш., Левит Г.Л., Матвеева Т.В., Слепухин П.А., Бакулин Д.А., Ковалев Н.С., Тюренков И.Н., Чарушин В.Н. Синтез и исследование психотропных свойств 1-замещенных 4-амино-5-оксопролинов // Доклады Российской академии наук. Химия, науки о материалах. 2020. Т. 494. № 1. С. 9-14.
5. Krzystanek M., Pałasz A. Possibility of a New Indication for Amantadine in the Treatment of Bipolar Depression-Case Series Study. Pharmaceuticals (Basel). 2020. vol. 13. no 10. P. 326.
6. Литвин Е.А., Колыванов Г.Б., Жердев В.П. Биотрансформация и фармакокинетика производных адамантана // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2012. № 1. С. 18-24.
7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2013. 944 с.
8. Тюренков И.Н., Куркин Д.В., Бакулин Д.А., Волотова Е.В. Изучение нейропротекторного действия нового производного глутаминовой кислоты - нейроглутама при фокальной ишемии мозга у крыс // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2014. Т. 77. № 9. С. 8-12.
9. Secades J.J. Citicoline: pharmacological and clinical review. Rev. Neurol. 2016. vol. 63. no S03. P. S1-S73.
10. Monville C., Torres E.M., Dunnett S.B. Comparison of incremental and accelerating protocols of the rotarod test for the assessment of motor deficits in the 6-OHDA model. J. Neurosci Methods. 2006. vol. 158. P. 219-223.