2,3±0,87). Вероятно, антитела класса IgM персистируют, как у лиц, впервые перенесших ЦМВ, так и при реактивации инфекции в течение нескольких месяцев. Это может быть связано с тем, что активное слущивание эндотелия в результате поражения клеток вирусами продолжается короткий период времени, и в дальнейшем могут включаться механизмы компенсации, прежде всего повышение концентрации ЛПНП и ЛПОНП.

Таким образом, в результате исследований было обнаруженоуменьшение концентрации холестерина крови в группе лиц с высокой концентрацией антител класса IgG^+ к ЦМВ по сравнению с контрольной группой и группой с концентрацией антител IgG^+ менее 18 МЕ; и не выявлено достоверной разницы в уровнях биохимических показателях крови (холестерина, триглицеридов, ЛПНП, отношения эфиров холестерина к холестерину) в группе лиц с наличием антител класса IgM^+ к ЦМВ по сравнению с контрольной группой.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЦИТОФЛАВИНА И ПИРАЦЕТАМА ПРИ ОСТРОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МОЗГА И В ПРОЦЕССЕ ЕГО РЕПЕРФУЗИИ

Бульон В.В., Хныченко Л.К., Сапронов Н.А., Коваленко А.Л., Алексеева Л.Е., Романцов М.Г., Чеснокова Н.П., Бизенкова М.Н.
Отдел нейрофармакологии НИИ экспериментальной медицины РАМН, Научно-технологическая фармацевтическая фирма «Полисан», Санкт-Петербург, Саратовский государственный медицинский университет, Саратов

При экспериментальной ишемии мозга крыс обнаружено возрастание уровня лактата, активности лактатдегидрогеназы, при одновременном снижении пирувата и активности сукцинатдегидрогеназы в гомогенатах мозга. В динамике реперфузии мозга к третьим суткам наблюдения нормализовалась активность лактатдегидрогеназы, реактивировалась сукцинатдегидрогеназа, уровень лактата превышал, а пирувата – был ниже показателей контрольной группы. Использование пирацетама и цитофлавина обеспечивало депотенцирование метаболических сдвигов, возникающих в процессе реперфузии ишемизированного мозга.

Как известно, нервная ткань обладает рядом метаболических особенностей, которые обуславливают тяжелые нарушения структуры и функции нервной системы при ограничениях кровотока.

Характерными особенностями метаболизма нервных клеток являются высокая интенсивность аэробных процессов и соответственно чрезвычайная чувствительность к развитию гипоксии, особенно, клеток коры головного мозга. Полное восстановление функций мозга возможно лишь в тех случаях, когда длительность ишемии не превышает 5-6 мин. Хотя следует отметить, что филогенетически наиболее старые структуры более устойчивы к гипоксии. Показано, что нейроны дыхательного и сосудодвигательного центров способны функционировать при гипоксии в течение 30 мин [2,5].

К общим закономерностям метаболических расстройств в органах и тканях, в том числе и нервной, при гипоксии различного генеза относятся активация анаэробных процессов, развитие метаболического ацидоза, интенсификация процессов липопероксидации, дестабилизация биологических мембран, в частности, цитоплазматической, митохондриальной, лизосомальной. При этом нарушаются электролитный баланс клеток, уровень их поляризации и возбудимости. Вследствие набухания митохондрий разобщаются процессы окислительного фосфорилирования и дыхания, подавляются все энергозависимые реакции. Следствием активации лизосом является развитие цитолиза и деградации соединительнотканных элементов [7].

Несмотря на довольно четкие представления о динамике метаболических сдвигов в условиях острой ишемии различных органов и тканей, в том числе и нервной, до настоящего момента остаются малоизученными характер и механизмы восстановления метаболических сдвигов в нервной ткани в условиях реперфузии. Последнее делает очевидным факт целесообразности патогенетического обоснования способов фармакологической коррекции, направленной на депотенцирование вторичных метаболических расстройств, в структурах центральной нервной системы при острых нарушениях локального, регионарного кровотока или системной гемодинамики.

Целью настоящей работы явилось изучение интенсивности гликолитических реакций и активности сукцинатдегидрогеназы – важнейшего фермента цикла Кребса при острой ишемии мозга, а также в динамике его реперфузии в сравнительных экспериментах с использованием различных способов медикаментозной коррекции расстройств метаболизма.

Материалы и методы исследования Эксперименты поставлены на 60 беспородных белых крысах - самцах массой 250 – 300 г. Ишемическое повреждение мозга моделировали частичным пережатием общих сонных артерий. Под эфирным наркозом проводили разрез кожи на передней поверхности шеи, освобождали от окружающих тканей общие сонные артерии и накладывали на них металлические зажимы, частично ограничивая мозговой кровоток в течение 90 мин. Затем зажимы снимали, обеспечивая реперфузию мозга.

Изучение метаболических сдвигов проведено в тканях коры головного мозга спустя 90 мин. с момента развития ишемии мозга, а также в условиях реперфузии головного мозга спустя 24 и 72 часа после снятия зажимов.

Состояние энергетических процессов в мозге оценивали по содержанию лактата и пирувата (Marbach E.P. et al., 1967), а также по активности ферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и сукцинатдегидрогеназы (СДГ), определяемых по методу Ещенко Н.Д., 1982 [3,4].

В сравнительных сериях экспериментов на белых крысах с аналогичным моделированием ишемии мозга проведено исследование метаболических эффектов пирацетама и цитофлавина. Цитофлавин (НТФФ «Полисан», Санкт-Петербург) вводили внутрибрюшинно в дозе 1.5 мг/кг 2 раза в сутки. В качестве препарата сравнения изучен пирацетам (1.5 мг/кг 20 % раствор внутрибрюшинно 2 раза в сутки). Действие препаратов изучено спустя 24 часа и 72 часа после начала реперфузии.

Результаты исследований были подвергнуты статистическому анализу с помощью программ Statistica 99 (Версия 5.5 А, «Statsoft, Inc», г. Москва, 1999); «Microsoft Excel, 97 SR-1» (Microsoft, 1997). Проведен расчет коэффициентов линейной корреляции (Реброва О.Ю., 2003).

Результаты и их обсуждение Как и следовало ожидать, в условиях ишемии мозга (90 мин. ишемии) возникала активация анаэробных гликолитических реакций, о чем свидетельствовало резкое возрастание уровня лактата (почти в 3 раза) в гомогенатах мозга ($p<0.001$, рис. 2), при одновременном уменьшении уровня пирувата ($p<0.001$, рис. 1) и резкое возрастание коэффициента лактат / пируват по сравнению с таковыми показателями ложнооперированных животных. Одновременно имело место резкое возрастание активности ЛДГ гомогенатов мозга ($p<0.001$, рис. 3).

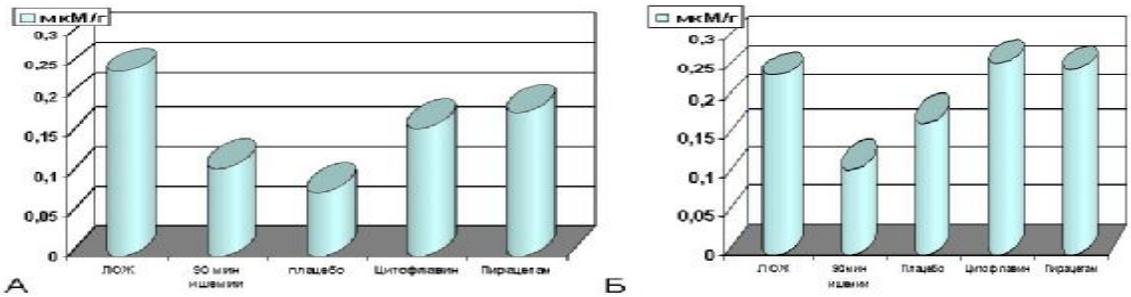

Рис. 1. Влияние медикаментозной коррекции на содержание пирувата в гомогенатах ишемизированного мозга и на фоне его реперфузии.

Примечание: А – реперфузия 1 сутки, Б – реперфузия 3 суток. ЛОЖ – ложнооперированные животные.

Как известно, ЛДГ катализирует обратимую реакцию взаимопревращения лактата и пирувата, не относится к лимитирующим ферментам гликолиза в связи с высокой активностью:

$$\text{Лактат} + NAD^+ \leftrightarrow \text{Пируват} + NADH^+ + H^+$$

В условиях недостаточной оксигенации мозга и высокой активности ЛДГ возрастает скорость поглощения пирувата и трансформации его в лактат, что и определяет обнаруженное нами увеличение содержания лактата в условиях экспериментальной ишемии мозга.

Спустя 90 мин. ишемии мозга возникало резкое подавление активности СДГ ($p<0.001$, рис. 4). Как известно, СДГ – один из важнейших ферментов цикла Кребса - флавопротеин, прочно связанный с внутренней митохондриальной мембраной, катализирующий дегидрирование сукцината с образованием фумарата.

Таким образом, как показали результаты проведенных нами исследований, СДГ является довольно чувствительным ферментом к ишемии мозга, обрывая цикл трикарбоновых кислот при гипоксических состояниях. Аналогичный факт обнаружен нами и в условиях экспериментальной ишемии миокарда.

Спустя 1 сутки с момента реперфузии содержание лактата в гомогенатах мозга снижалось ($p<0.01$, рис. 2) по сравнению с предыдущим периодом наблюдения (90 мин. ишемии), превышая, однако, показатели интактных животных. В то же время еще более снижалось содержание пирувата по сравнению с показателями группы интактных животных ($p<0.001$, рис. 1), возникало дальнейшее возрастание показателя - лактат / пируват.

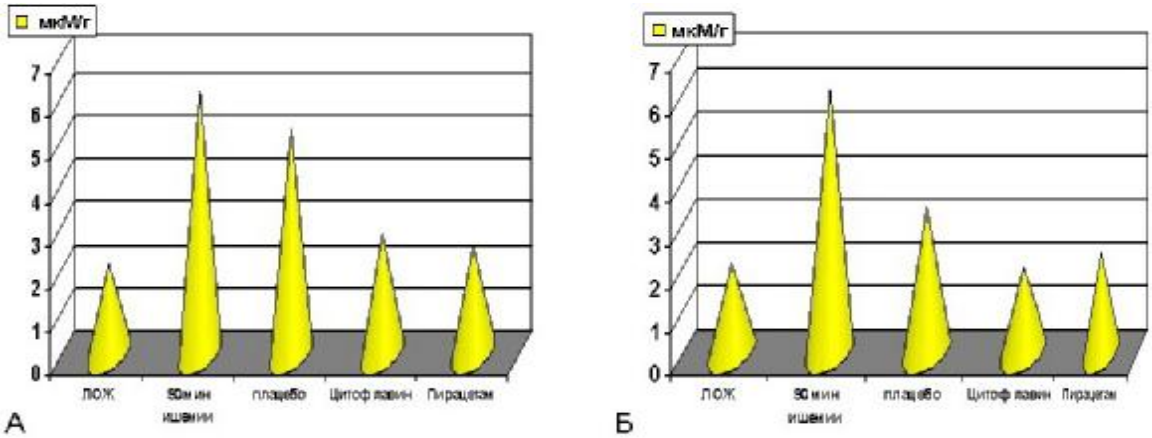

Рис. 2. Влияние медикаментозной коррекции на содержание лактата в гомогенатах ишемизированного мозга и на фоне его реперфузии.

Примечание: А – реперфузия 1 сутки, Б – реперфузия 3 суток. ЛОЖ – ложнооперированные животные.

Спустя сутки с момента развития реперфузии мозга активность ЛДГ ($p<0.001$, рис. 3) оставалась высокой, а СДГ – низкой по сравнению с таковыми показателями группы неишемизированных животных. В то же время активность СДГ несколько возрастала ($p<0.001$, рис. 4) по сравнению с соответствующими показателями предыдущего периода наблюдения (90 мин. ишемии).

В последующих экспериментах проведена сравнительная оценка метаболических эффектов пирацетама и цитофлавина в динамике реперфузии мозга.

Как известно, пирацетам – ноотропное средство, широко используется в клинической практике при гипоксических состояниях, интоксикациях, нарушениях мозгового кровообращения и т.д. Пирацетам улучшает микроциркуляцию в ишемизированных зонах мозга, подавляет активированную агрегацию тромбоцитов, усиливает утилизацию глюкозы и т.д. [6].

Как оказалось, пирацетам проявлял положительные эффекты на изучаемые нами метаболические процессы в ишемизированном мозге спустя 1 сутки после его реперфузии. При этом установлено, что содержание лактата в гомогенатах мозга ($p<0.001$, рис. 2) снижалось по сравнению с показателями контрольной группы, где использовали плацебо, не достигая, однако, показателей группы ложнооперированных животных. В то же время уровень пирувата возрастал ($p<0.001$, рис. 1), а показатель лактат / пируват заметно снижался.

При этом достоверно возрастала активность СДГ ($p<0.001$, рис. 4), а ЛДГ ($p<0.001$, рис. 3) снижалась по сравнению с показателями соответствующей группы наблюдения (1 сутки реперфузии) без медикаментозной коррекции.

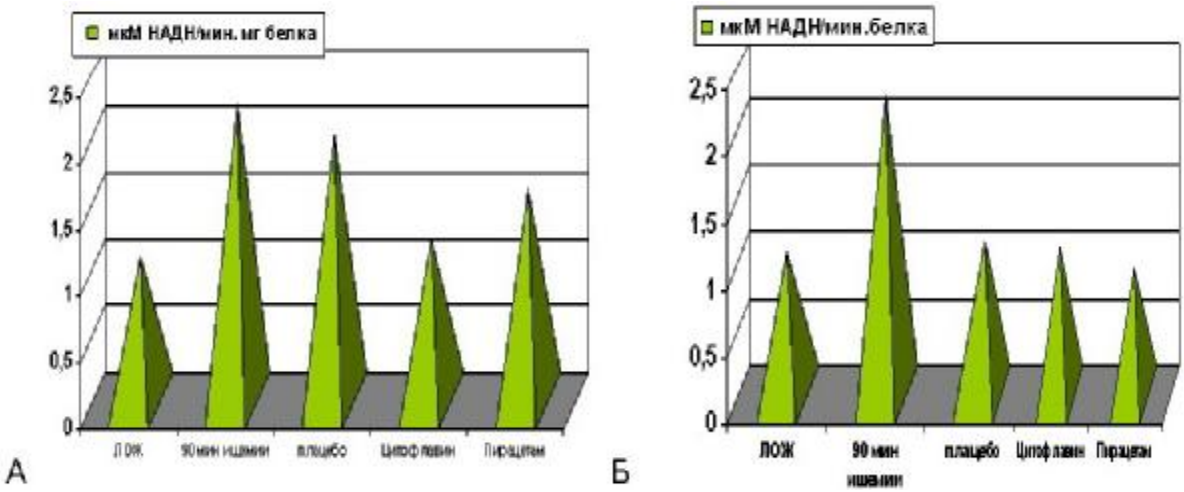

Рис. 3. Влияние медикаментозной коррекции на активность ЛДГ в гомогенатах ишемизированного мозга и на фоне его реперфузии.

Примечание: А – реперфузия 1 сутки, Б – реперфузия 3 суток. ЛОЖ – ложнооперированные животные.

Таким образом, результаты проведенных исследований позволили выявить новые метаболические эффекты пирацетама при реперфузии ишемизированного мозга на клеточном уровне, свидетельствующие об активации аэробного окисления под влиянием указанного препарата и усилении вовлечения продуктов гликолитических реакций в цикл трикарбоновых кислот.

В последующих наблюдениях проведена сравнительная оценка метаболических эффектов цитофлавина в условиях реперфузии ишемизированного мозга.

Цитофлавин - комплексный препарат, разработанный научно-технологической фармацевтической фирмой «Полисан» (Санкт-Петербург, 2000г), включающий в себя в качестве активных компонентов сукцинат натрия, никотинамид, рибоксин и рибофлавин мононуклеотид [1].

Сравнительные серии наблюдений, проведенные спустя 1 сутки после реперфузии ишемизированного мозга, позволили выявить положительные метаболические эффекты цитофлавина более выраженные, чем у пирацетама по некоторым изучаемым показателям.

Так, на фоне использования цитофлавина возникало резкое повышение активности СДГ ($p<0.001$, рис. 4), превышающее даже показатели контрольной группы неишемизированных животных.

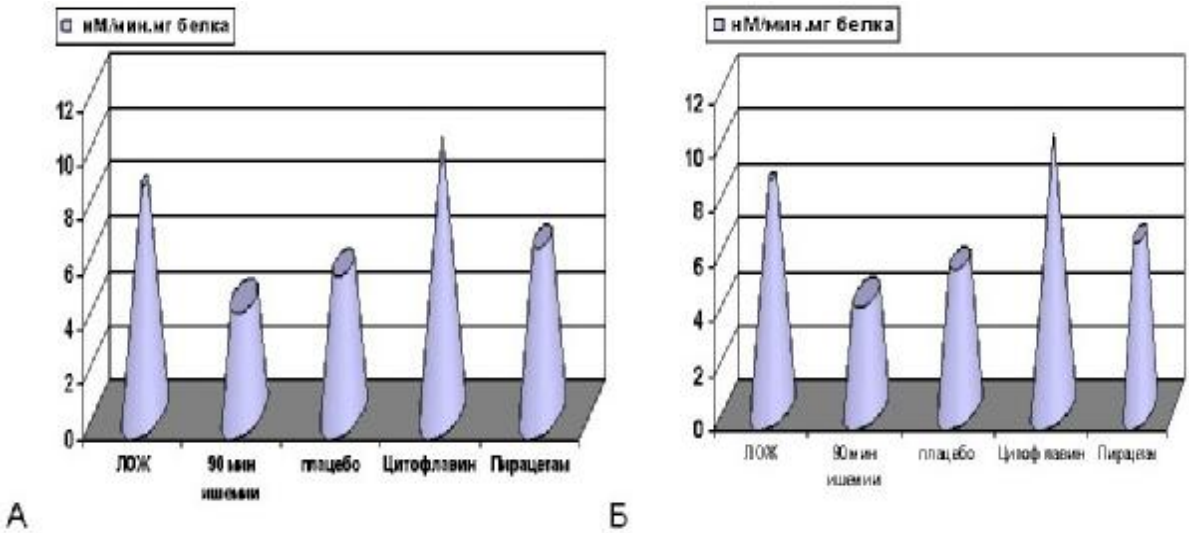

Рис. 4. Влияние медикаментозной коррекции на активность СДГ в гомогенатах ишемизированного мозга и на фоне его реперфузии.

Примечание: А – реперфузия 1 сутки, Б – реперфузия 3 суток. ЛОЖ – ложнооперированные животные.

В то же время при введении цитофлавина спустя 1 сутки реперфузии мозга происходила достаточно выраженная нормализация гликолитических реакций, на что указывали выраженное снижение уровня лактата ($p<0.001$, рис. 2), возрастание уровня пирувата ($p<0.001$, рис. 1), снижение коэффициента лактат / пируват, снижение активности ЛДГ ($p<0.001$, рис. 3) по сравнению с аналогичными показателями группы сравнения с использованием плацебо. Однако вышеуказанные показатели не достигали таковых в группе контроля (без ишемии мозга).

Далее предоставлялось целесообразным проследить в динамике реперфузии ишемизированного мозга (спустя 3 суток) характер нарушений метаболического статуса в гомогенатах мозга и дать оценку биологическим эффектам пирацетама и цитофлавина.

Как оказалось в указанный период наблюдения еще не возникало полной нормализации гликолитических реакций и реакций аэробного окисления.

В опытах с введением плацебо отмечено, что уровень лактата в гомогенатах мозга ($p<0.001$, рис. 2), отношение лактат / пируват превышали таковые показатели в группе контроля (ложнооперированные, без экспериментальной ишемии). В то же время активность ЛДГ и СДГ практически нормализовалась ($p<0.001$, рис. 3 и 4).

Состояние метаболизма в гомогенатах мозга на фоне введения пирацетама в этот период наблюдения свидетельствовали о выраженной тенденции к нормализации.

При этом уровень пирувата ($p<0.001$, рис.1) достигал показателей контроля (ложнооперированные, без экспериментальной ишемии), нормализовалась активность ЛДГ ($p<0.001$, рис. 3). Ак-

тивность СДГ (p<0.001, рис. 4) была несколько снижена, а коэффициент лактат / пируват повышался по сравнению с показателями контроля, как и в группе животных без медикаментозной коррекции.

Эффекты цитофлавина на гликолитические реакции в мозге были более выраженными, чем эффекты пирацетама, о чем свидетельствовала нормализация уровня лактата и активности ЛДГ. Эффекты цитофлавина на активность СДГ и уровень пирувата в гомогенатах мозга были аналогичными таковым в группе животных с использованием пирацетама: активность СДГ, как и в опытах без медикаментозной коррекции была несколько ниже показателей контроля (ложнооперированные, без экспериментальной ишемии), а содержание пирувата в гомогенатах мозга нормализовалось.

Выводы:

1. В процессе экспериментальной ишемии возникают одномоментно активация гликолитических реакций и подавление цикла трикарбоновых кислот, на что указывают возрастание уровня лактата, активация ЛДГ при одновременном снижении содержания пирувата и активности СДГ в гомогенатах ишемизированного головного мозга белых крыс.
2. Спустя 1 сутки с момента реперфузии мозга не отмечалось нормализации метаболизма в гомогенатах мозга предварительно ишемизированных животных.
3. Спустя 3 суток с момента реперфузии имели место нормализация активности ЛДГ, возрастание активности СДГ, в то же время уровень лактата превышал, а пирувата – оставался сниженным по сравнению с показателями контроля.
4. Пирацетам и цитофлавин оказывают депотенцирующий эффект на метаболические расстройства, возникающие при реперфузии предварительно ишемизированного мозга.
5. Спустя 3 суток с момента реперфузии ишемизированного мозга обнаружены более выраженные эффекты цитофлавина по сравнению с пирацетамом на интенсивность гликолитических реакций гомогенатов мозга, о чем свидетельствовало большее снижение содержания лактата и его нормализация по сравнению с таковыми показателями, на фоне введения пирацетама.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1.Афанасьев В.В. Цитофлавин в интенсивной терапии: Пособие для врачей. – СПб. – 2005.- 36 с. – с. 9-30.

2.Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М: Медицина, 2001. – 327 с.

3.Ещенко Н.Д., Прохорова М.И. Методы биохимических исследований - ЛГУ, Ленинград, 1982. – с.224-226

4.Ещенко Н.Д., Вольский Г.Г., Прохорова М.И. Методы биохимических исследований - ЛГУ, Ленинград, 1982. – с. 210-212.

5.Зайчик А.Ш., Гурилов Л.П. Основы общей патологии. Часть 2. / А.Ш. Зайчик, Л.П. Гурилов. – Основы патохимии. – СПб.: ЭЛБИ, 2000. – 687с. – с.363-364.

6.Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2-х томах. - 14-е изд. – М.: Новая волна, 2000. – Т. 2. – с. 450.

7.Типовые патологические процессы / Н.П. Чеснокова: Монография / - Издательство Саратовского медицинского университета. 2004. – 400 с. - с. 132-136.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОГИПОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ АМИНОКИСЛОТ – СОЕДИНЕНИЙ РГПУ-196 И РГПУ-197 В СРАВНЕНИИ С ФЕНИБУТОМ

Епишина В.В., Багметов М.Н., Тюренков И.Н.
Волгоградский государственный медицинский университет
Волгоград, Россия

Цель: сравнительная экспериментальная оценка противогипоксических свойств новых производных нейромедиаторных аминокислот – соединений РГПУ-196, РГПУ-197 и фенильного производного ГАМК - фенибута при однократном и курсовом введении.

Материалы и методы: антигипоксическая активность соединений изучена на модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией в двух сериях опытов: I– соединения вводились однократно за 30 минут до тестирования, II– соединения вводились животным ежедневно однократно в течение 10 дней (последнее введение за 30 минут до тестирования). О наличии у соединений противогипоксической активности судили по изменению времени до наступления апноэ у животных в условиях гипоксии. Далее противогипоксические свойства соединений изучены на модели гемической гипоксии, вызванной однократным подкожным введением нитрита натрия в дозе 250 мг/кг. Показателем противогипоксической активности являлось изменение времени жизни животных в условиях острой нитритной интоксикации. Соединения вводились однократно за 30 мин. до введения нитрита натрия. Эксперименты выполнены на белых мышах-самцах, массой 22 – 24 грамма. Соединения вводились в дозах: РГПУ-196 - 27, РГПУ-197 – 22, фенибут - 25 мг/кг интраперитонеально, контрольные животные получали физиологический раствор в эквивалентном объеме по аналогичной схеме. Результаты статистически обработаны с использо-