

**Research of lipid peroxidation and antioxidant protection status in modelling focal brain injury in rats at the prophylactic administration of adenosine triphosphate
Sufianov R.¹, Vitik A.², Hljostkina M.³ (Russian Federation)**

Исследование состояния системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты при моделировании фокального повреждения головного мозга у крыс на фоне профилактического введения аденозинтрифосфата

Суфианов Р. А.¹, Витик А. А.², Хлесткина М. С.³ (Российская Федерация)

¹Суфианов Ринат Альбертович / Sufianov Rinat – студент,
лечебный факультет,

Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, г. Москва;

²Витик Алексей Александрович / Vitik Alexey - аспирант,

кафедра нейрохирургии с курсами нейрореанимации и нейрореабилитации,

факультет повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов,

Федеральное государственное бюджетное учреждение Федеральный центр нейрохирургии;

³Хлесткина Мария Сергеевна / Khlestkina Maria - старший преподаватель,

кафедра фармакологии,

Государственный медицинский университет, г. Тюмень

Аннотация: оценка фармакологических свойств производных аденозина, обладающих сродством к А-рецепторам, представляют большой теоретический и практический интерес, однако механизмы нейропротекторного эффекта А-агонистов изучены недостаточно. Целью исследования было изучение состояния системы перекисного окисления липидов при моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга у крыс в эксперименте на фоне профилактического введения аденозинтрифосфата. Проведенное исследование показывает высокую перспективность использования аналогов аденозина с целью нейропротекции и улучшения результатов лечения ишемических повреждений ЦНС.

Abstract: objective of the study is to research the system state of lipid peroxidation while modeling local compressive brain injury in rats during the experiment in the setting of preventative ATP administration. Conducted study demonstrates high potential of adenosine analogues use for neuroprotection and for improvement of treatment results for ischemic injury.

Ключевые слова: АТФ, агонисты аденозиновых рецепторов, локальное ишемическое повреждение мозга, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита.

Keywords: ATP, adenosine receptor agonists, brain ischemia, lipid peroxidation, antioxidant protection.

Введение

В последние годы во многих публикациях показан защитный эффект аденозина и других А-агонистов на различных моделях повреждения ЦНС [5, 6, 20, 25, 26, 27]. Оценка фармакологических свойств производных аденозина, обладающих сродством к А-рецепторам, представляют большой теоретический и практический интерес, однако механизмы нейропротекторного эффекта А-агонистов изучены недостаточно [4, 14-18, 20, 21, 29]. Одним из возможных механизмов церебропротекторного эффекта данных препаратов может быть их способность уменьшать нарушение процессов перекисного окисления липидов и модулировать механизмы антиоксидантной защиты [4, 14, 21, 25].

Целью исследования было изучение состояния системы перекисного окисления липидов при моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга у крыс в эксперименте на фоне профилактического введения аденозинтрифосфата.

Материалы и методы

Работа выполнена на 24 крысах самцах, весом 180–220 г. В соответствии с целями исследования всех животных разделили на 3 группы: 1 (ложнооперированная) группа (n=6) была представлена животными только с внутрибрюшинным (в/б) введением физиологического раствора (NaCl 0,9 % 0,01 мл) без последующего моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга; во 2 (контрольной) группе (n=10) за 30 минут до моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга, в/б предварительно вводили физиологический раствор (NaCl 0,9 %, 0,01 мл); в 3 (основной экспериментальной) группе (n=8) за 30 минут до моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга, в/б предварительно вводили 1 % раствор АТФ (в эквивалентном объеме 50 мг/кг). Моделирование локального компрессионного повреждения головного мозга осуществляли путем 30 минутной локальной компрессии (площадь компрессии 7 мм², глубина погружения стержня 3 мм) правой теменной области головного мозга [14, 19, 28].

С целью оценки состояния процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) животных выводили из эксперимента на 3 сутки после моделирования повреждения головного мозга. Для оценки состояния ПОЛ, из извлеченного после декапитации головного мозга выделяли участки коры из зоны компрессионного повреждения головного мозга и приготавливали 10 % гомогенат (с использованием физиологического раствора). Состояние процессов ПОЛ оценивали по содержанию в крови и тканях головного мозга малонового диальдегида (МДА) и гидроперекисей липидов (ГПЛ), отражающих различные стадии этого процесса. Об антиоксидантной защите (АОЗ) судили на основании активности пероксидазы и каталазы крови [14, 25]. Для интегральной оценки состояния ПОЛ и АОЗ использовали обобщенный показатель пероксидации [14, 19], суммарно отображающий отношение количества свободных радикалов, образующихся в процессе ПОЛ, к активности ферментов, обуславливающих процессы антиоксидантной защиты:

$$ОПП = (МДА + ГПЛ) / (К + П / 100),$$

где ОПП - обобщенный показатель пероксидации, МДА – содержание малонового диальдегида (мкмоль/л), ГПЛ – содержание гидроперекисей липидов (у. е.), К – активность каталазы, П – активность пероксидазы (µМ / мин /л).

Статистический анализ и визуализацию результатов исследования выполняли с использованием MS Office Excel 2003. Для оценки статистической значимости полученных результатов использовали непараметрический критерий U — Уилкоксона-Манна-Уитни. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое, а m — ошибка средней. Различия считали значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Во всех экспериментальных группах на 3 сутки после моделирования повреждения головного мозга наблюдалось статистически значимое повышение содержания в крови и ткани головного мозга продуктов ПОЛ и увеличение активности ферментов АОЗ. Наибольшее увеличение содержания продуктов ПОЛ отмечалось в контрольной группе. Содержание МДА крови в данной группе было выше на $335,7 \pm 21,4$ % от уровня ложнооперированной серии ($P < 0,01$). В ткани головного мозга содержание этого метаболита было выше, чем в ложнооперированной группе на $172,6 \pm 6,7$ % ($P < 0,01$). Уровень ГПЛ крови на 3 сутки был выше в 3,2 раза в сравнении с уровнем ложнооперированной группы ($P < 0,01$). В ткани головного мозга увеличение содержания этого метаболита составило $172,3 \pm 2,3$ % ($P < 0,01$). Увеличение активности пероксидазы на 3 сутки после моделирования повреждения составляло $190,9 \pm 16,1$ % ($P < 0,01$). Активность каталазы в этой группе была выше ложнооперированной серии на $121,4 \pm 3,6$ % ($P < 0,05$). Значение обобщенного показателя пероксидации (ОПП) у животных данной группы, в сравнении с аналогичным значением ложнооперированной группы ($0,4 \pm 0,1$ у. е.), характеризовалось повышением до $1,1 \pm 0,2$ у. е. ($P < 0,01$). При профилактическом в/б введении АТФ на 3 сутки после моделирования повреждения головного мозга содержание продуктов ПОЛ практически не отличалась от контрольной группы и характеризовалась тенденцией к нормализации показателей. Повышение содержания МДА крови в этой группе на 3 сутки после моделирования повреждения составило $250 \pm 28,6$ % от уровня ложнооперированной серии ($P < 0,01$), что было существенно меньше, чем в контрольной группе ($P < 0,01$). В ткани головного мозга содержание МДА также было выше, чем в ложнооперированной серии на $163,5 \pm 9,52$ % ($P < 0,01$) и в целом было меньше, чем в контрольной группе ($P < 0,05$). Содержание ГПЛ крови при повреждении на фоне профилактического введения АТФ практически не отличалось от уровня контрольной группы и было выше чем в ложнооперированной группе на $253,3 \pm 13,3$ % ($P < 0,01$). В ткани головного мозга содержание ГПЛ в этой группе не отличалось от ложнооперированной серии. Активность пероксидазы в основной экспериментальной группе была выше, чем в ложнооперированной серии на $233,6 \pm 19,2$ % от уровня ложнооперированной серии ($P < 0,01$), и была выше, чем в контрольной группе. Показатели активности каталазы на фоне профилактического в/б введения АТФ на 3 сутки после моделирования повреждения головного мозга не отличались от аналогичных значений в контрольной и ложнооперированной группах. Как видно из рис. 1, обобщенный показатель пероксидации (ОПП) у животных данной группы был выше, чем в ложнооперированной группе, но значимо ниже, чем в контрольной серии, и составлял $0,8 \pm 0,1$ у. е. ($P < 0,01$ в сравнении ложнооперированной группой, $P < 0,05$ в сравнении с контрольной группой). Проведенные нами биохимические исследования у животных при моделировании повреждения головного мозга свидетельствуют о нарушении процессов ПОЛ (по показателям крови и ткани мозга) и несостоятельности отдельных показателей АОЗ (пероксидаза и каталаза) в дезактивации реактивных метаболитов. Профилактическое введение АТФ потенцирует процессы АОЗ и значительно уменьшает нарушение процессов ПОЛ на 3 сутки после моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга. Механизмы действия АТФ, учитывая достаточно быструю ферментативную деградацией его до аденозина, наиболее вероятно связаны с активацией специфических аденозиновых А1 рецепторов на мембране нервных клеток, что сопровождается снижением выброса глутамата из терминалей нейронов, блокадой Ca^{2+} каналов, подавлением глутаматной эксайтотоксичности и патологической ишемической деполаризации нервной ткани [1, 2, 3, 9, 10, 19, 21]. Дополнительными

позитивными аспектами потенциального применения АТФ в клинической практике являются противовоспалительное, вазодилатирующее и сравнимое по силе с применением наркотических анальгетиков анальгезирующее действие [5, 8, 11-13, 23, 24]. Проведенное исследование показывает высокую перспективность использования аналогов аденозина с целью нейропротекции и улучшения результатов лечения пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой.

Выводы

1. Локальное компрессионное повреждение головного мозга сопровождается нарушением процессов перекисного окисления липидов и несостоятельностью отдельных показателей антиоксидантной защиты в дезактивации реактивных метаболитов.

2. Профилактическое введение АТФ потенцирует процессы антиоксидантной защиты и значительно уменьшает нарушение процессов перекисного окисления липидов при моделировании локального компрессионного повреждения.

3. Целесообразно использование препаратов аденозина, уже используемых в клинической практике, в составе комплексной нейропротекторной терапии черепно-мозговой травмы и в предоперационной подготовке у пациентов с заболеваниями и повреждениями головного мозга.

Литература

1. *Витик А. А., Хлесткина М. С., Ищенко Т. В.* Изменения биоэлектрической активности головного мозга при моделировании фокальной транзиторной ишемии головного мозга у крыс // Сборник статей IV Международной научно-практической конференции «European Research», 2016. С. 38-46.
2. *Гусев Е. И., Скворцова В. И.* Ишемия головного мозга. М. 2001. 328 с.
3. *Гусев Е. И., Скворцова В. И., Стаховская Л. В.* Проблема инсульта в Российской Федерации: время активных современных действий // Журн. неврол. и психиатрии им. С.С. Корсакова, 2007. 107(6). С. 4-10.
4. *Елисеев В. В., Полтавченко Г. М.* Роль аденозина в регуляции физиологических функций организма. СПб: Наука, 1991. 120 с.
5. *Ищенко Т. В., Хлесткина М. С., Витик А. А.* Концентрация нейроспецифических белков в плазме крови при моделировании фокального ишемического повреждения головного мозга у крыс // Сборник статей IV Международной научно-практической конференции «European Research», 2016. С. 47-56.
6. *Карелов А. Е.* Особенности хирургического стресса при пуринаргической анальгезии СПб. 2005. Автореф. дисс. канд. мед. наук. 24 с.
7. *Кулинский В. И., Суфианова Г. З., Усов Л. А., Суфианов А. А.* Защитный эффект интрацеребровентрикулярного введения А-агонистов при полной ишемии головного мозга // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1994. Т. 117. № 6. С. 622-624.
8. *Лебедев О. В.* Общая анестезия на основе аденозина при лапароскопической холецистэктомии // Дисс. канд. мед. наук. М., 2007. 90 с.
9. *Мурик С. Э., Суфианов А. А., Суфианова Г. З., Шапкин А. Г.* Экспериментальные данные об электрофизиологических коррелятах ишемии мозга разной тяжести // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, 2003. № 1. 148 с.
10. *Парфенов В. А., Хасанова Д. Р.* Ишемический инсульт. М: МИА, 2012. 288 с.
11. *Суфианов А. А.* Нейроэндоскопические вмешательства при опухолях пинеальной области, задних отделов третьего желудочка и задней черепной ямки // Вопросы нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко, 2000. № 4. 9 с.
12. *Суфианов А. А., Шапкин А. Г., Суфианова Г. З., Чимытова Е. А., Таборов М. В.* Использование метода локального преобразования Фурье для оценки электроэнцефалографических изменений у пациентов после ликворшунтирующих и нейроэндоскопических операций по поводу гидроцефалии // Нейрохирургия, 2010. № 2. С. 47-51.
13. *Суфианов А. А., Шапкин А. Г., Суфианова Г. З., Чимытова Е. А., Таборов М. В., Шапкин Ю. Г., Якимов Ю. А., Махов А. Н.* Сравнительная электрофизиологическая оценка эффективности ликворшунтирующих и эндоскопических нейрохирургических вмешательств при гидроцефалии // Неврологический вестник. Журнал им. В. М. Бехтерева, 2007. Т. XXXIX. № 2. С. 97-99.
14. *Суфианова Г. З.* Нейропротекторное действие агонистов аденозиновых рецепторов при фокальных ишемических и травматических повреждениях ЦНС // дисс. докт. мед. наук, Санкт-Петербург, 2003.
15. *Суфианова Г. З., Суфианов А. А., Шапкин А. Г.* Противосудорожный и нейропротекторный эффекты циклопентиладенозина в модели судорожного статуса у крыс // Экспериментальная и клиническая фармакология, 2013. Т. 76. № 11. С. 13-16.

16. Суфианова Г. З., Усов Л. А., Суфианов А. А., Переломов Ю. П., Раевская Л. Ю., Шапкин А. Г. Защитное действие агонистов аденозиновых рецепторов на модели травматического повреждения спинного мозга у крыс // Экспериментальная и клиническая фармакология, 2002. Т. 65. № 5. С. 58-61.
17. Суфианова Г. З., Усов Л. А., Суфианов А. А., Шапкин А. Г., Раевская Л. Ю. Защитное действие циклопентиладенозина на малоинвазивной модели острой фокальной ишемии головного мозга у крыс // Экспериментальная и клиническая фармакология, 2002. Т. 65. № 1. С. 24-26.
18. Суфианова Г. З., Усов Л. А., Суфианов А. А., Шапкин А. Г., Раевская Л. Ю., Голубев С. С. Защитное действие А-агонистов на малоинвазивной модели ишемии спинного мозга у крыс // Экспериментальная и клиническая фармакология, 2003. Т. 66. № 1. С. 23-26.
19. Суфианова Г. З., Шапкин А. Г. Повреждение нервной ткани: механизмы, модели, методы оценки. М.: Издательство РАМН, 2014. 288 с.
20. Хлесткина М. С., Витик А. А., Ищенко Т. В. Перекисное окисление липидов при моделировании локального ишемического повреждения головного мозга на фоне цитопротекторной терапии агонистами аденозиновых рецепторов // Сборник статей IV Международной научно-практической конференции «European Research», 2016. С. 25-33.
21. Шапкин А. Г., Суфианова Г. З., Суфианов А. А., Шапкин Ю. Г., Таборов М. В., Шевченко В. П. Электрофизиологические нарушения при локальном компрессионном повреждении спинного мозга // Хирургия позвоночника, 2009. № 1. С. 76-80.
22. Burnstock G. Purinergic signalling: pathophysiology and therapeutic potential. // Keio Jyu Med. 2013. 62 (3). P. 63–73.
23. Karlsten R., Gordh T., Post C. Local antinociceptive and hyperalgesic effects in the formalin test after peripheral administration of adenosine analogs in mice // Pharmacol. Toxicol, 1992. Vol. 70. P. 434–438.
24. Reeve A. J., Dickenson A. H. The roles of spinal adenosine receptors in the control of acute and more persistent nociceptive responses of dorsal horn neurons in the anaesthetized rat // Br. J. Pharmacol. 1995. Vol. 116. P. 2221–2228.
25. Sufianova G. Z., Sufianov A. A., Shapkin A. G. Effect of cyclopentyladenosine on lipid peroxidation during focal cerebral ischemia // Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2014. Т. 157. № 2. С. 228-230.
26. Sufianova G. Z., Usov L. A., Sufianov A. A., Shapkin A. G., Raevskaya L. Yu. New minimally invasive model of spinal cord ischemia in rats // Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2002. Т. 133. № 1. С. 98-101.
27. Sufianova G. Z., Usov L. A., Sufianov A. A., Shapkin A. G., Raevskaya L. Yu., Golubev S. S., Murik S. E. Minimum-invasive model of focal brain ischemia in rats // Экспериментальная и клиническая фармакология, 2001. Т. 64. № 4. С. 63-67.
28. Watanabe S., Hoffman J. R., Craik R. L. et al. A new model of localized ischemia in rat somatosensory cortex produced by cortical compression // Stroke, 2001. Vol. 32, № 11. P. 2615–2623.