

УДК: 616.8 – 008.615 + 616.08: 615

Стресспротективные эффекты комбинации контрикала и корвитина при изучении кислородзависимых процессов в головном мозге

И.И. Фомочкина, В.З. Харченко, А.В. Кубышкин, И.Д. Сапегин

Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, Симферополь

Ключевые слова: иммобилизационный стресс, мозговое кровообращение, напряжение кислорода, ограниченный протеолиз, свободнорадикальное окисление липидов

Проблема стресса и своевременной фармакологической коррекции его последствий признана одним из актуальных направлений медицины [1,2,3,4]. Это обусловлено тем, что современное технократическое общество подвержено возрастающим стрессорным нагрузкам, поэтому актуальность приобретает проблема изучения патогенеза нарушений, вследствие действия стрессорных факторов, а также поиск способов защиты от стресса [5,6].

Нашими предыдущими исследованиями установлено, что основными звеньями патогенеза иммобилизационного стресса являются дисбаланс протеазно-антипротеазной системы, а так же активация свободнорадикального окисления липидов на фоне угнетения антиоксидантного потенци-

ала [7,8]. Дальнейшие исследования, направленные на коррекцию метаболических нарушений при ИС, показали, что превентивное сочетанное применение ингибитора протеиназ контрикала и антиоксиданта корвитина способствует нормализации показателей протеиназ-ингибиторной системы, СРО и практически полному выключению этих систем из патогенеза стресса [9].

Известно, что процесс формирования общего адаптационного синдрома сопровождается нарушением биоэнергетики головного мозга, повышением проницаемости мембран и нарушением их функций [10]. Среди обширного числа работ, посвященных стрессорному влиянию на организм, исследования, освещающие вопросы изменения мозгового кровообращения, немногочисленны, а

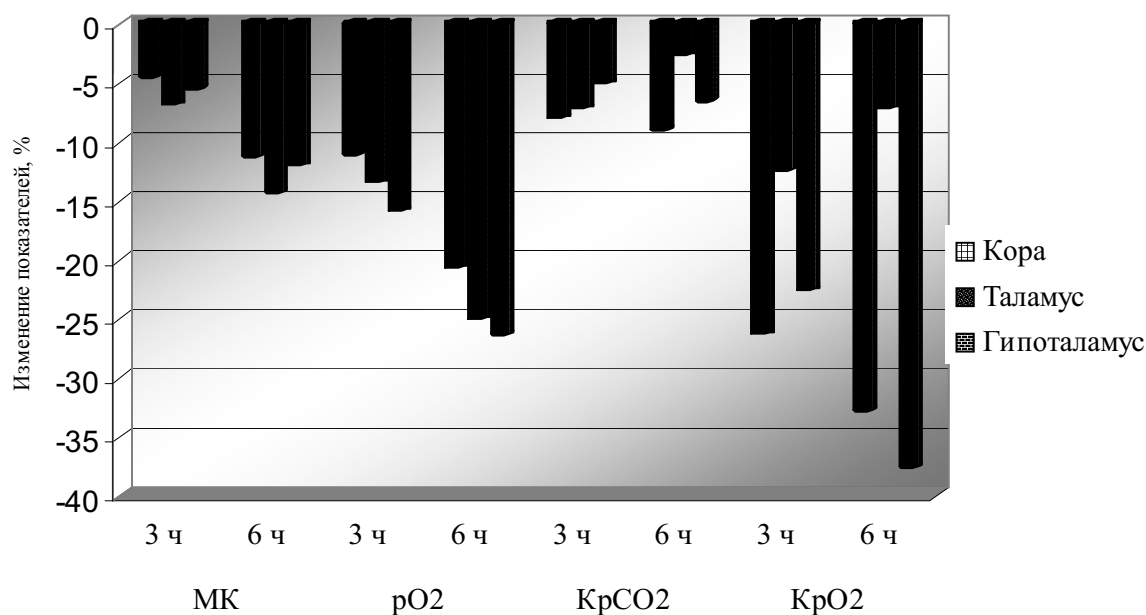
данные противоречивы, поэтому особый интерес представляет изучение возможного влияния метаболических нарушений на кислородный режим, мозговое кровообращение и состояние регуляции кровообращения в мозге при стрессе.

Таким образом, целью нашей работы явилось изучение изменений тканевого кровотока, кислородного режима, состояния регуляции кровообращения в различных структурах мозга и возможной взаимосвязи этих изменений с метаболическими нарушениями при стрессе.

Материал и методы исследований

Изменения локального мозгового кровообращения (МК), напряжение кислорода (pO_2), реак-

Изменения показателей МК, KpO_2 , $KpCO_2$ и pO_2 в коре и подкорковых структурах мозга бодрствующих кроликов на фоне действия ИС.



тивности сосудов и водно-электролитного состояния под влиянием иммобилизационного стресса (ИС) изучали в хронических экспериментах на 15 бодрствующих кроликах с вживленными в мозг электродами. Воздействие ИС осуществляли в течение 6-ти часов, путем помещения животных в тесные клетки-пеналы, в положении на животе. Изменения показателей регистрировали на 3-х и 6-ти часах стрессорного воздействия в лобной, теменной, затылочной областях коры, таламусе и гипоталамусе. Каждая серия опытов состояла от 8 до 12 наблюдений. Для изучения состояния церебральной гемодинамики при ИС использовался комплекс электрофизиологических исследований. Данная группа методов исследования основана на регистрации связанных с динамикой изучаемых показателей изменений электрического тока, напряжения или сопротивления в электрической цепи.

Под этаминал-натриевым наркозом (40 мг/кг внутривенно), методом стереотаксиса через трепанационные отверстия в черепе в кору больших полушарий, таламус и гипоталамус вво-

дили электроды, которые изготавливали по методике [11], и фиксировали на костях черепа протакрилом.

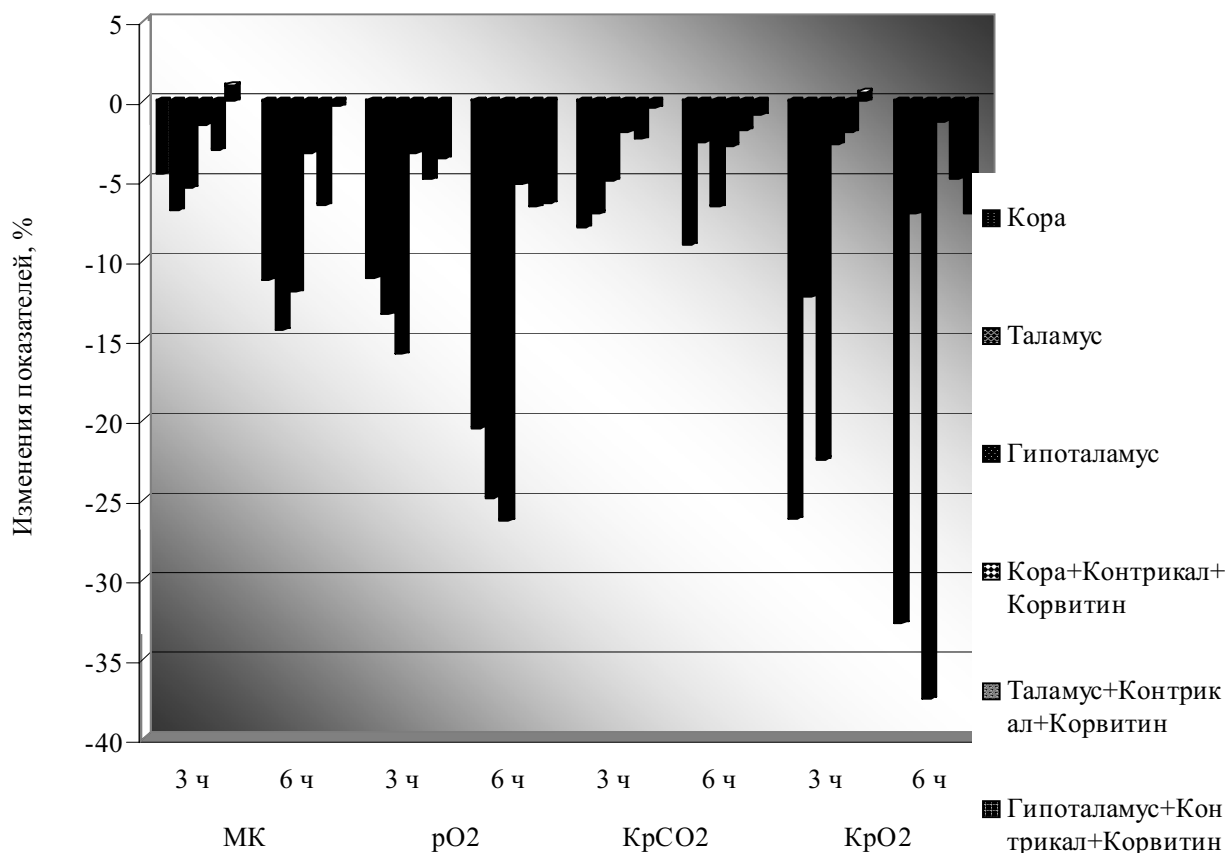
Для измерения объемной скорости локального МК, вазодилаторной ($KpCO_2$) и вазоконстрикторной (KpO_2) реактивности сосудов в коре больших полушарий, таламусе и гипоталамусе бодрствующих кроликов использовали метод водородного клиренса [12, 13]. Для оценки реактивности сосудов мозга использовали коэффициент реактивности, который вычисляли по отношению величины кровотока в состоянии покоя к его значению на фоне стандартизированных возмущающих воздействий. В качестве последних использовали наиболее привычные для системы кровообращения раздражители, такие как гиперкапния и гипероксия. Коэффициенты реактивности характеризуют степень прироста или снижения МК, что отражает состояние компенсаторных механизмов цереброваскулярной системы на фоне воздействия. Для сопоставления показателей уровня локального МК в условиях ИС со степенью оксигенации ткани, по кото-

рой можно судить об интенсивности обменных процессов, изучали напряжение кислорода в исследуемых структурах мозга методом полярографии [14, 15]. Водно-электролитный баланс мозговой ткани при ИС изучали методом электрической импедансометрии с помощью описанных выше электродов во всех исследуемых структурах. Для измерений использовали частоты 46.3, 93 и 463 кгц при напряжении в измерительной цепи не более 0,1v [11]. Определяли внеклеточное (R_1) и внутриклеточное (R_2) сопротивление. По динамике этих параметров можно судить о водно-электролитном балансе ткани.

Результаты собственных исследований

При ИС на 3-м часе эксперимента наблюдается незначительное, недостоверное снижение МК в коре на 4,5 % ($p>0,5$), гипоталамусе - на 5,5 % ($p>0,5$), и более выраженное падение МК в таламусе на 6,8 % ($p>0,5$) (рис. 1). К 6-ти часам ИС наблюдается достоверное снижение локального

Изменения показателей МК, KpO_2 , $KpCO_2$ и pO_2 в коре и подкорковых структурах мозга бодрствующих кроликов при ИС и на фоне предварительного введения комбинации контрикала и корвитина.



МК в коре на 11,2 %, ($p < 0,01$), по сравнению с контролем, падение МК в гипоталамусе на 11,9 % ($p < 0,05$), и более значительное снижение МК в таламусе на 14,3 % ($p < 0,01$). При этом имеется существенное достоверное падение pO_2 во всех областях мозга, нарастающее в конце эксперимента с максимумом в гипоталамусе.

При сопоставлении изменений локального МК и напряжения O_2 в тех же структурах мозга становится очевидным, что степень оксигенации ткани не находится в прямой зависимости от уровня кровотока. Решающее значение имеет состояние мозговых сосудов, которые осуществляют регуляцию притока и оттока крови в зависимости от меняющейся под влиянием внешних факторов потребности мозговой ткани в кис-

лороде.

Известно, что стресс вызывает резкое повышение функциональной активности нейронов, и, соответственно, потребности их в кислороде. Поэтому очень важно сохранение как вазоконстрикторной, так и вазодилаторной реактивности сосудов головного мозга. При моделировании ИС прослеживается тенденция к снижению вазодилаторной реактивности в гипоталамусе на 5,1 % ($p > 0,25$), и более выраженное, достоверное падение $KpCO_2$ в коре - на 7,9 % ($p < 0,05$) и таламусе - на 7,1 % ($p < 0,05$) на 3-ем часу стрессорного воздействия. Снижение вазодилаторной реактивности усугублялось к концу эксперимента в коре и гипоталамусе - на 9 % ($p < 0,05$) и 6,6 % ($p < 0,01$), соответственно. При ИС на 3-ем часу эксперимента отмечено дос-

товерное снижение вазоконстрикторной реактивности во всех исследуемых областях. В большей степени снижение вазоконстрикторной реактивности наблюдалось на 6-ти часах экстремального воздействия. Так, падение KpO_2 в коре при ИС в течение 6-ти часов составило 32,7 % ($p < 0,01$), в таламусе - 37,5 % ($p < 0,01$), по сравнению с контролем. Наблюдаемое под влиянием ИС снижение $KpCO_2$ и, в большей степени, KpO_2 говорит об уменьшении адапционных возможностей системы ауторегуляции мозговой гемодинамики. Это подтверждается падением pO_2 на фоне возросшей потребности нейронов в кислороде при моделировании экстремального воздействия. При ИС не наблюдалось достоверных изменений внутри- и внеклеточного сопротивления во всех отделах моз-

га на протяжении всего эксперимента. Поскольку, значения R_1 и R_2 обратно пропорциональны степени гидратации соответственно внеклеточной и внутриклеточной среды, то полученные данные, по видимому, свидетельствуют об отсутствии выраженных отечных явлений в межклеточном пространстве и нейронах при ИС.

Поскольку, данные, описанные ранее, свидетельствуют о том, что при ИС имеет место нарушение протеиназ-ингибиторного и прооксидантно-антиоксидантного равновесия, которое, в свою очередь, снижает адаптационные возможности со стороны сосудов головного мозга, то в процессе ИС, по-видимому, развивается патологическое состояние, приводящее к снижению компенсаторных возможностей и функциональной устойчивости системы МК. ИС сопровождается расстройством механизмов нейрогенной регуляции церебральной гемодинамики, повышением проницаемости сосудистых стенок и клеточных мембран, нарушением реактивности сосудов головного мозга, перестройкой метаболизма. Следствием этого является нарушение обменных процессов, приводящее к несоответствию возросших потребностей мозговой ткани в O_2 и его утилизации, к гипоксии. Это позволяет сделать вывод о наличии функциональных нарушений в системе мозгового кровообращения и обменных процессов в нейронах.

Экспериментально подтвержденным является тот факт, что наиболее эффективно блокирует активацию свободнорадикального окисления липидов и дисбаланс в протеиназ-ингибиторной системе комбинация препаратов контрикала и корвитина, а представленные выше результаты контрольных экспериментов свидетельствуют о наличии нарушений метаболизма мозговой ткани под влиянием ИС, следовательно, можно предположить, что, воздействуя на эти звенья патогенеза

стресса, вышеуказанная комбинация окажет церебропротекторное действие при ИС.

Для выяснения этого вопроса нами проведены эксперименты по изучению изменений локального МК, pO_2 , реактивности сосудов головного мозга с предварительным введением комбинации препаратов. Исследования по изучению водно-электролитного баланса мозговой ткани при введении контрикала и корвитина не проводились, поскольку полученные и вышеописанные данные свидетельствуют об отсутствии выраженных отечных явлений в межклеточном пространстве и нейронах при ИС.

Проведенные исследования показали, что превентивное введение комбинации контрикала (в дозе 10 000 АтрЕД/кг массы, разведенного в 0,9% растворе NaCl, из расчета 10 мл/кг массы) и корвитина (в дозе 10 мг/кг массы тела, разведенного в 0,9% растворе NaCl, из расчета 2 мл/кг массы) препятствует падению МК в коре и подкорковых структурах и способствует нормализации данного показателя (рис. 2).

Под влиянием комбинации препаратов контрикала и корвитина при моделировании ИС существенно уменьшается падение pO_2 , наиболее выраженное в гипоталамусе на 6-ом часе эксперимента. На 3-м часе воздействия в коре, таламусе и гипоталамусе снижение уровня pO_2 , вызванное действием ИС, сменяется тенденцией к нормализации этого показателя и уровень напряжения кислорода приближается к контрольным значениям. К 6-му часу стрессорного воздействия использование комбинации препаратов также препятствует падению pO_2 , особенно в коре. В целом комбинация препаратов контрикала и корвитина оказывает достаточно выраженный антигипоксический эффект, особенно в коре больших полушарий.

Под влиянием ИС на фоне действия сочетанного применения

контрикала и корвитина наблюдается достоверный рост вазодилаторной сосудистой реактивности на 3-ем часе эксперимента в таламусе на 5,1 % ($p>0,5$) и гипоталамусе на 4,9 % ($p>0,5$), максимально выраженный в коре – на 6,5 % ($p>0,5$), по сравнению с показателем у животных, не получавших препараты. На 6-ом часе стрессорного воздействия наблюдалась аналогичная динамика – повышение $KpCO_2$ на 6,8 % ($p>0,5$) и 6,1 % ($p>0,25$) в коре и гипоталамусе, по сравнению с группой животных, подвергавшихся стрессу, но без лекарственной коррекции.

В таламусе в данном временном интервале коэффициент вазодилаторной сосудистой реактивности оставался на прежнем уровне, хотя на фоне этого имел место адекватный уровень кровотока и уменьшалось падение pO_2 . Как описывалось выше, в контрольных экспериментах в течение 3-го часа и, в большей степени, 6-го часа происходит резкое снижение вазоконстрикторной реактивности мозговых сосудов во всех изучаемых структурах мозга при одновременном прогрессивном падении pO_2 . Комбинация контрикала и корвитина нивелирует снижение KpO_2 , развивающееся под влиянием ИС на 3-ем и 6-ом часах эксперимента.

Таким образом, введенные перед началом стрессорного воздействия препараты препятствуют снижению локального МК, падению pO_2 в мозговой ткани под влиянием ИС, что свидетельствует о сохранении интенсивности обменных процессов. Этот аспект является актуальным для мозга, ткань которого чувствительна к дефициту энергии. Проведенные исследования показали выраженный антигипоксический эффект комбинации препаратов контрикала и корвитина на фоне положительного влияния на вазомоторные реакции мозговых сосудов при ИС.

Обсуждение и анализ результатов исследований

В основе механизма церебропротекторного действия предложенной комбинации, по нашему мнению, лежит оптимизация обменных процессов, улучшение микроциркуляции и оксигенации мозговой ткани, а также стабилизация биологических мембран в результате антипротеиназного и антиокислительного эффектов. Это заключение соответствует литературным данным, которые свидетельствуют о том, что контрикал, наряду со стабилизирующим действием на мембранные структуры, способствует нормализации реологических свойств крови и препятствует снижению мозгового кровотока. Корвитин обеспечивает оптимальную метаболическую эффективность при дефиците кислорода, что способствует нормализации энергетических и обменных процессов. Эти эффекты могут иметь существенное значение в антигипоксическом и антиоксидантном действии корвитина, способствуя стабилизации клеточных мембран и нормализации кислородного и энергетического балансов, в сохранении реактивности мозговых сосудов и адекватного кровоснабжения в экстремальной ситуации. Таким образом, на фоне подавления свободнорадикального окисления липидов и гиперпротеолиза, ослабления ацидоза, повышения реактивности мозговых сосудов, благоприятных изменений метаболических процессов, возрастают компенсаторные возможности системы кровоснабжения мозга. Этот фактор играет важную роль в адаптации цереброваскулярной системы к неблагоприятным воздействиям и увеличивает ее функциональную устойчивость.

Выводы

В результате проведенных экспериментов выявлены незначи-

тельное уменьшение локального мозгового кровотока в коре головного мозга, таламусе и гипоталамусе, снижение вазодилаторной и вазоконстрикторной реактивности сосудов, падение pO_2 в мозговой ткани и метаболические нарушения, обусловленные дисбалансом протеазно-антипротеазной и окислительно-антиоксидантной систем.

Анализ результатов сочетанного применения ингибиторов протеиназ и антиоксидантов показал, что одновременное использование контрикала и корвитина улучшает показатели церебральной гемодинамики, обладает выраженным антигипоксическим действием, что позволяет говорить о сочетании контрикала и корвитина как о достаточно эффективной комбинации препаратов с церебропротекторным действием и рекомендовать ее для дальнейших клинических испытаний при стрессорной патологии различного генеза.

Литература

1. *Важичка О.М., Дев'яткина Т.О., Луценко Р.В. Развитие виченна про стрес на сучасному етапі / / Одеськ. мед. журнал. — 2000. - № 6. — С. 108-110.*
2. *Середенин С.Б. Фармакологическая регуляция эмоционально-стрессовых состояний / / Вестн. РАМН. — 2003. - № 12. — С.36-37.*
3. *Судаков К.В. Индивидуальность эмоционального стресса / / Журнал неврологии и психиатрии. - 2005. - № 2. — С. 4-12.*
4. *Передерій В.Г., Безюк М.М. Стрес і його наслідки / / Український медичний часопис. — 2003. — Т. 38., № 6. — С. 65-69.*
5. *Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / / Пат. физиол. и эксперим. терапия. - 2000. - № 4. — С. 21-31.*
6. *Simulated microgravity enhances cerebral artery vasoconstriction and vascular resistance through endothelial nitric oxide mechanism / Wilkerson M.K, Lesniewski L.A, Golding E.M. et al. / Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. — 2005. — V. 288., № 4.*

— P. 1652-1661.

7. *Фомочкина И.И. Метаболические нарушения при иммобилизационном стрессе и возможности их лекарственной коррекции / / Biomedical and biosocial anthropology. - Vinnytsia. - 2004. - № 3. - P. 130-134.*
8. *Фомочкина И.И. Состояние ограниченного протеолиза и ингибиторного потенциала на модели иммобилизационного стресса у крыс / / Медицина сегодня и завтра. — Харьков. — 2004. - № 2. - С. 13-15.*
9. *Фомочкина И.И. Фармакологическая коррекция метаболических изменений при иммобилизационном стрессе / / «Актуальні проблеми фармакології та токсикології»: Тези II науково-практичної конференції молодих вчених та спеціалістів. — Киев, 22 грудня 2005. — С. 62-63.*
10. *Бресюн В.И. / / Биофизика. — 1985. - № 2. — С. 306-308.*
11. *Сапегин И.Д. Влияние фенибутта и пикамиллона на мозговое кровообращение при моделировании гемодинамических нарушений, связанных с болезнью движения: Автореф. дис... канд. мед. наук. 14.00.25 / Киев. — 1993. — 22 с.*
12. *Демченко И.Т. Измерение органного кровотока с помощью водородного клиренса / / Физиол. ж. СССР. — 1981. — Т.67., №1. — С. 178-183.*
13. *Макаров А.А., Макаров В.П., Цыпин А.Б. Модификация установки для определения локального мозгового кровотока методом водородного клиренса / / Патологич. физиол. и эксперим. терапия. — 1980. - № 2. — С. 72-74.*
14. *Березовский В.А. Напряжение кислорода в тканях животных и человека. — Киев: Наукова думка, 1975. — 280 с.*
15. *Коваленко Е.А., Березовский В.А., Эпштейн И.М. Полярнографическое определение кислорода в органе. — М.: Медицина, 1975. — 231 с.*

Стреспротективні ефекти комбінації контрикалу та корвітину при вивченні кисеньзалежних процесів у головному мозку

I.I. Фомочкіна, В.З. Харченко, А.В. Кубишкін,
I.D. Сапегін

У експерименті при іммобілізаційному стресі у кролей спостерігалось зменшення локального мозкового кровообігу у корі головного мозку, таламусі та гіпоталамусі, зниження реактивності судин, зниження напруження кисню у тканинах мозку, обумовлені метаболічними порушеннями. Поєднане використання комбінації контрикалу та корвітину покращує показники церебральної гемодинамики, обладає значною антигіпоксичною дією та дозволяє рекомендувати її для подальших клінічних випробувань при стресорних розладах різноманітного походження.

Ключові слова: іммобілізаційний стрес, мозковий кровообіг, напруження кисню, обмежений протеоліз, вільнорадикальне окислення ліпідів

Stressprotective effects of application of combination contrycal and corvitine at studying oxygendeterminative processes in the brain

I.I. Fomochkina, V.Z. Harchenko, A.V. Kubyshkin,
I.D. Sapegin

In experiment at immobilization stress at rabbits reduction of a local brain blood-groove in a cortex of a brain, thalamus and hypothalamus, decrease reactance of vessels, a power failure of oxygen in the brain tissue, caused was marked by metabolic disorders. Application of a combination contrycal and corvitin improves parameters cerebral blood circulation, possesses expressed antihypoxic action and allows to recommend it for the further clinical tests at stress-pathology various genesis.

Key words: Immobilisation Stress, brain blood circulation, a pressure of the oxygen, limited Protheolysis, Lipids Peroxydation