

РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ТАУРИНА ПРИ КОМПРЕССИОННОЙ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА

Н. С. Сапронов, В. В. Бульон, Н. Н. Кузнецова, Е. Н. Селина¹

В эксперименте на крысах показана способность нового производного таурина (хлоргидрат-N-изопропиламид-2-(1-фенилэтил)аминоэтансульфоновая кислота) нормализовать энергетический обмен, снижать интенсивность перекисного окисления липидов и реактивировать антиоксидантную систему в спинном мозге при его компрессионном повреждении. Показано, что данный препарат восстанавливает нарушенную моторную функцию задних конечностей и значительно снижает летальность животных с травмированным спинным мозгом. Установлено, что нейропротективное действие нового производного таурина заметно превосходит аналогичный эффект церебролизина.

Ключевые слова: компрессионная травма, спинной мозг, ишемия, хлоргидрат-N-изопропиламид-2-(1-фенилэтил)аминоэтансульфоновая кислота, церебролизин

ВВЕДЕНИЕ

Ишемия, являющаяся неперенным компонентом травматического повреждения спинного мозга, запускает каскад патобиохимических процессов, приводящих к некротической гибели изначально неповрежденных нейронов и проводящих путей спинного мозга [1]. Триггером формирующегося патобиохимического каскада выступают нарушения энергетического метаболизма и сопутствующая им активация свободнорадикальных процессов [5, 7].

В связи с этим целесообразно использование в комплексной терапии травматической болезни спинного мозга препаратов, способных оказывать метаболическую защиту и предотвращать вторичные ишемические повреждения нейронов. Перспективными препаратами, оказывающими нейропротективное действие, являются антигипоксанты и антиоксиданты [2, 3, 11]. К разряду таких соединений можно отнести хлоргидрат-N-изопропиламид-2-(1-фенилэтил)аминоэтансульфоновую кислоту (ТАУ-15), синтезированную в отделе нейрофармакологии НИИЭМ РАМН на основе таурина.

Известно, что таурин способствует выживанию экспериментальных животных на модели острой гипоксической гипоксии, влияя на активность АТФаз и ферментов энергетического обмена [9]. ТАУ-15 проявляет антигипоксантные свойства на моделях нормобарической гипоксии с гиперкапнией и гемической гипоксии [14]. Выявлено энергостимулирующее и антиоксидантное действие препарата при токсическом поражении печени и ишемии миокарда [15, 16].

Целью настоящей работы явилась оценка влияния ТАУ-15 на изменения в энергетическом обмене, перекисном окислении липидов (ПОЛ) и активности ферментов антиоксидантной системы (АОС) при компрессионной травме спинного мозга, а также на двигательную функцию задних конечностей и выживаемость животных. В качестве препарата сравнения использовали церебролизин.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 300 беспородных белых крысах-самцах массой 180 – 200 г. Компрессионное повреждение спинного мозга воспроизводили разработанным нами методом. У животных под эфирным наркозом проводили ламинэктомию позвонка на нижнегрудном уровне (Th₁₀ – Th₁₁), не повреждая твердую мозговую оболочку. Компрессию этого участка спинного мозга вызывали металлическим стержнем (длина 7 см, диаметр 3 мм), закрепленным в универсальном стереотаксическом приборе. Стержень опускали на глубину 5 мм от уровня твердой мозговой оболочки; продолжительность сдавливания составляла одну минуту.

После нанесения травмы всех животных делили на следующие группы: ложнооперированные; контрольные (с травмой спинного мозга); животные, получавшие после травмы ТАУ-15 (25 мг/кг) или церебролизин (1 мл/кг). Контрольным крысам вводили физиологический раствор. Инъекции препаратов и плацебо делали внутривентрикулярно: первый раз через 30 мин после окончания повреждающего воздействия, в дальнейшем ТАУ-15 вводили дважды в течение суток, а церебролизин — один раз в сутки.

Лечебный эффект исследуемых препаратов определяли через 1, 3, 7 и 14 сут с момента нанесения трав-

¹ Отдел нейрофармакологии (руководитель — член-корр. РАМН Н. С. Сапронов) НИИ экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

мы. У животных оценивали степень нарушения двигательной функции задних конечностей по 4-х-балльной шкале: 1 балл — норма; 2 балла — умеренный парализ; 3 балла — выраженный парализ; 4 балла — парализация [13].

Определяли выживаемость животных и медиану выживаемости — время, до которого доживает 50 % крыс. Рассчитывали относительную эффективность препаратов по формуле [8]:

$$Z = P - K/1 - K,$$

где Z — относительная эффективность препарата, P — доля выживших животных с препаратом, K — доля выживших животных в контроле.

В ликворе животных определяли содержание молочной кислоты (МК), пировиноградной кислоты (ПВК) [18], малонового диальдегида (МДА) [12] и восстановленного глутатиона (ВГ) [10], а также активность супероксиддисмутазы (СОД) [6]. В одну пробу брали ликвор от трех крыс.

Статистическую обработку данных проводили стандартными методами с применением t -критерия Стьюдента с помощью пакета прикладных программ STATGRAPHICS.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования (таблица) показали, что через сутки после нанесения компрессионной травмы в ликворе животных регистрировалось увеличение концентрации МК на 230 % и снижение ПВК на 69 % по сравнению с этими показателями у ложнооперированных крыс. Соотношение МК/ПВК возрастало с 9 до 95,5 (в 10 раз), что свидетельствует о значительном подавлении механизмов аэробного превращения субстратов и усилении анаэробного гликолитического пути.

На более отдаленных сроках травмы спинного мозга (3-й, 7-й дни; на 10-й день все крысы погибали) интенсивность процессов гликолиза снижалась (МК/ПВК равнялось 51,2 и 29,8 соответственно), но оставалась значительно выше, чем у ложнооперированных животных.

Отмеченные нарушения в энергетическом обмене сопровождались активацией ПОЛ и угнетением активности ферментов АОС в травмированном спинном мозге. Так, на 1-е сутки наблюдения в ликворе увеличивалась концентрация МДА на 78 %, снижалась активность СОД на 61 % и содержание ВГ на 64 %. На 3-й и 7-й дни травмы спинного мозга содержание МДА снижалось, но оставалось достоверно выше его уровня у ложнооперированных крыс. Активность ферментов АОС повышалась, но оставалась значительно ниже активности этих ферментов у ложнооперированных животных.

ТАУ-15 оказывал положительное влияние на энергетический обмен травмированного спинного мозга,

значительно снижая интенсивность гликолиза и увеличивая активность аэробных процессов образования энергии на всех сроках наблюдения (МК/ПВК равнялось 34,5; 22,5; 14,6 и 10 против 95,5 в контроле). Через 14 дней после компрессионной травмы спинного мозга концентрация МК и ПВК в ликворе достигала исходного уровня.

Церебролизин — ноотропный препарат, способствующий увеличению потребления кислорода нервной тканью и уменьшению негативного влияния лактацидоза [17], по влиянию на энергетический обмен заметно уступал ТАУ-15. Об этом факте свидетельствуют более высокие значения соотношения МК/ПВК с 1-х по 14-е сутки травмы спинного мозга (82; 35,4; 22,4 и 16,1). Через 14 дней после травмы спинного мозга концентрация МК оставалась достоверно выше, а концентрация ПВК — ниже, чем у ложнооперированных крыс.

ТАУ-15 позитивно влиял на изменения в процессах ПОЛ и активности ферментов АОС. Так, препарат снижал продукцию МДА и восстанавливал активность СОД до исходного уровня на 7-е сутки, а активность ферментов системы глутатиона — на 14-е сутки травмы спинного мозга. Церебролизин снижал интенсивность ПОЛ и реактивировал систему АОС лишь к 14-м суткам наблюдения.

У крыс с компрессионной травмой спинного мозга отмечалась парализация задних конечностей на протяжении всего срока наблюдения. Степень этого неврологического расстройства оценивалась в 4 балла.

ТАУ-15 значительно улучшал динамику восстановления двигательной функции задних конечностей животных с травмированным позвоночником, снижая степень неврологического нарушения на 1, 3, 7 и 14-е сутки травмы до $3,2 \pm 0,18$ ($p < 0,001$), $2,87 \pm 0,25$ ($p < 0,001$), $2,04 \pm 0,36$ ($p < 0,001$), $1,4 \pm 0,22$ ($p < 0,001$) баллов соответственно.

Церебролизин, состоящий из активных аминокислот и пептидов [17], также восстанавливал нарушенную двигательную функцию задних конечностей животных с травмированным спинным мозгом. Так, степень неврологического нарушения снижалась на указанных сроках наблюдения до $2,93 \pm 0,19$ ($p < 0,001$), $2,8 \pm 0,26$ ($p < 0,001$), $2,14 \pm 0,36$ ($p < 0,001$) и $1,75 \pm 0,24$ баллов.

Компрессионное повреждение спинного мозга приводило к гибели 100 % животных на 10-е сутки после нанесения травмы (рис. 1). ТАУ-15 значительно увеличивал продолжительность жизни крыс с травмированным спинным мозгом — на 14-й день выживало 53 % животных. Церебролизин менее эффективно, чем ТАУ-15, повышал выживаемость контрольных крыс — на 14-й день травмы выживал 41 % животных.

Медиана выживаемости крыс, получавших ТАУ-15, превышала 14 сут, а получавших церебролизин, равнялась 9,5 сут (у контрольных животных — 5,5 сут).

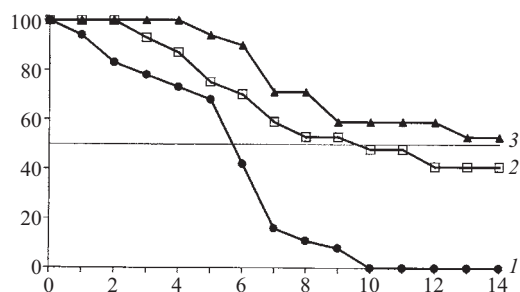


Рис. 1. Кривая выживаемости крыс с травмой спинного мозга, получавших препараты.

1 — контроль ($n = 30$), 2 — церебролизин ($n = 30$), 3 — ТАУ-15 ($n = 30$), сплошная горизонтальная линия — медиана выживаемости. По оси ординат — выживаемость, %, по оси абсцисс — время, сут.

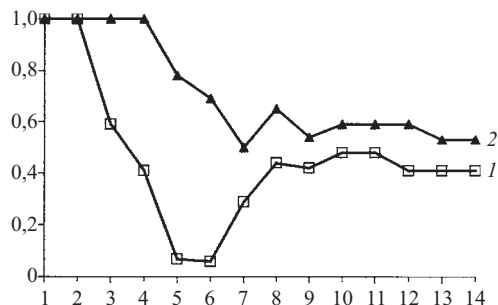


Рис. 2. Динамика относительной эффективности препаратов.

1 — церебролизин, 2 — ТАУ-15. По оси ординат — относительная эффективность, Z; по оси абсцисс — время, сут.

Относительная эффективность обоих препаратов (рис. 2) была одинакова на протяжении первых двух суток травмы спинного мозга. В течение последующих 12 сут ТАУ-15 по своей относительной эффективности превосходил церебролизин в 1,2 – 11,5 раз.

Известно, что наиболее эффективными нейропротекторными препаратами являются вещества, одновременно стимулирующие метаболизм и улучшающие микроциркуляцию мозга [3, 4]. Имеются сведения, что церебролизин активирует метаболические процессы и нервную деятельность мозга, однако не улучшает его кровоснабжение, что приводит к более тяжелому течению ишемии в остром периоде [4].

Данные настоящего и ранее выполненных исследований свидетельствуют, что ТАУ-15 является препаратом метаболического типа действия с цитопротекторным эффектом [15, 16]. Более высокая по сравнению с

церебролизин, относительная эффективность ТАУ-15 может свидетельствовать о его способности улучшать спинальный кровоток.

Таким образом, результаты исследования показали, что ТАУ-15 проявляет выраженные нейропротекторные свойства при компрессионной травме спинного мозга. Препарат нормализует процессы энергообразования, снижает интенсивность ПОЛ и реактивирует АОС в травмированном спинном мозге. ТАУ-15 восстанавливает нарушенную двигательную функцию задних конечностей, значительно снижает летальность экспериментальных животных. Нейропротекторное действие ТАУ-15 превосходит аналогичный эффект церебролизина. Полученные данные позволяют рассматривать ТАУ-15 в качестве перспективного средства метаболической защиты при компрессионной травме спинного мозга.

Влияние ТАУ-15 и церебролизина на некоторые показатели метаболизма в ликворе крыс с компрессионным повреждением спинного мозга ($M \pm m$)

Группа животных	МК, мкМ/г	ПВК, мкМ/г	МК/ПВК	МДА, нМ/г	СОД, А/мг белка	ВГ, мкМ/г
1. Ложнооперированные	1,72 ± 0,03	0,19 ± 0,01	9,0	4,19 ± 0,05	0,56 ± 0,03	1,32 ± 0,08
2. Травма, 1-е сутки:						
плацебо	5,73 ± 0,08*	0,06 ± 0,01*	95,5	7,47 ± 0,17*	0,22 ± 0,02*	0,48 ± 0,05*
ТАУ-15	3,11 ± 0,08#	0,09 ± 0,01	34,5	5,11 ± 0,10#	0,39 ± 0,03#	0,60 ± 0,01#
церебролизин	4,92 ± 0,12#	0,06 ± 0,01	82,0	6,61 ± 0,14#	0,31 ± 0,02#	0,51 ± 0,02
3. Травма, 3-е сутки:						
плацебо	4,61 ± 0,21*	0,09 ± 0,01*	51,2	5,82 ± 0,10*	0,31 ± 0,03*	0,63 ± 0,04*
ТАУ-15	2,93 ± 0,05#	0,13 ± 0,01#	22,5	4,28 ± 0,07#	0,46 ± 0,03#	1,03 ± 0,08#
церебролизин	3,54 ± 0,12#	0,10 ± 0,01	35,4	4,97 ± 0,09#	0,36 ± 0,01	0,65 ± 0,04
4. Травма, 7-е сутки:						
плацебо	3,88 ± 0,12*	0,13 ± 0,02*	29,8	5,16 ± 0,19*	0,46 ± 0,03*	0,80 ± 0,04*
ТАУ-15	2,04 ± 0,03#	0,14 ± 0,01	14,6	4,16 ± 0,03#	0,50 ± 0,02	1,10 ± 0,03#
церебролизин	2,46 ± 0,07#	0,11 ± 0,01	22,4	4,61 ± 0,19#	0,41 ± 0,02	0,89 ± 0,02
5. Травма, 14-е сутки:						
плацебо	Погибли	Погибли	Погибли	Погибли	Погибли	Погибли
ТАУ-15	1,71 ± 0,03	0,17 ± 0,01	10,0	4,08 ± 0,07	0,53 ± 0,01	1,19 ± 0,03
церебролизин	2,09 ± 0,10	0,13 ± 0,01	16,1	4,41 ± 0,13	0,49 ± 0,02	1,20 ± 0,02

Примечание. Различия статистически значимы: * — к группе ложнооперированных крыс, # — к соответствующей группе плацебо при $p < 0,05$; $n = 6 - 7$, в каждой пробе ликвор от трех животных.

ВЫВОДЫ

1. ТАУ-15 оказывает выраженное нейропротекторное действие при компрессионной травме спинного мозга крыс: нормализует энергетический обмен, снижает интенсивность перекисного окисления липидов и реактивирует антиоксидантную систему, восстанавливает нарушенную двигательную функцию задних конечностей, снижает летальность.

2. Нейропротекторный эффект ТАУ-15 превосходит таковой у церебролизина.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. А. Борщенко, А. В. Басков, А. Г. Коршунов, Ф. С. Сатанова, *Вопр. нейрохир.*, № 2, 28 – 31 (2000).
2. В. В. Бульон, И. В. Зарубина, А. Л. Коваленко и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **66**(6), 56 – 58 (2003).
3. В. В. Бульон, И. Б. Крылова, Н. Р. Евдокимова и др., *Бюл. экспер. биол.*, **137**(4), 467 – 470 (2004).
4. И. В. Ганнушкина, А. Л. Антелава, М. В. Баранчикова, *Пат. физиол.*, № 2, 3 – 8 (1998).
5. Е. И. Гусев, В. И. Скворцова, *Ишемия головного мозга*, М. (2001).
6. Е. Е. Дубинина, Л. А. Сальникова, Л. Ф. Ефимова, *Лаб. дело*, № 10, 30 – 33 (1983).
7. И. В. Зарубина, П. Д. Шабанов, *Мед. акад. ж.*, **3**(2), 49 – 57 (2003).
8. И. А. Иванова, Ю. Г. Бобков, *Бюл. экспер. биол.*, **48**(11), 567 – 570 (1984).
9. И. Н. Маньковская, Г. М. Вавилова, О. Н. Харламова, *Укр. биохим. ж.*, № 6, 43 – 46 (1992).
10. *Методы биохимического исследования* (ред. М. И. Прохорова), Л., ЛГУ, 183 – 187 (1982).
11. О. В. Поварова, Е. И. Каленикова, Е. И. Городецкая, О. С. Медведев, *Экспер. и клин. фармакол.*, **66**(3), 69 – 73 (2003).
12. *Современные методы в биохимии* (ред. В. Н. Орехович), М., 63 – 64 (1977).
13. Г. З. Суфианова, Л. А. Усов, А. А. Суфианов и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **65**(5), 8 – 61 (2002).
14. П. А. Торкунов, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, СПб. (1997).
15. Л. К. Хныченко, В. В. Бульон, Н. С. Сапронов, *Экспер. и клин. фармакол.*, **64**(2), 38 – 40 (2001).
16. Л. К. Хныченко, В. В. Бульон, Н. С. Сапронов, Н. И. Кудряшова, *Пат. физиол.*, № 1, 6 – 8 (2002).
17. *Brain Mechanisms and Psychotropic Drugs* (Eds. A. Baskys, G. Remington), New York: CRK Press, 239 – 257 (1996).
18. E. P. Marbach and M. H. Weil, *Clin. Chem.*, № 13, 314 – 325 (1967).

Поступила 18.03.05.

THE NEUROPROTECTOR EFFECT OF A NEW TAURINE DERIVATIVE ON A MODEL OF COMPRESSION SPINAL CORD TRAUMA IN RATS

N. S. Sapronov, V. V. Bul'on, N. N. Kuznetsova, and E. N. Selina¹

¹ Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences, ul. akademika Pavlova 12, St. Petersburg, 197376 Russia

The neuroprotector effect of a new taurine derivative, 2-(1-phenylethyl)-aminoethanesulfonyl-2-propylamide hydrochloride, has been studied in rats with model compression spinal cord trauma. The drug favored restoration of the motor function of posterior extremities in rats with the model spinal cord trauma and significantly decreased the lethality in test animals. The taurine derivative normalized the energy metabolism, lipid peroxidation and antioxidant system in animals with spinal cord trauma. The neuroprotector effect of the new taurine derivative significantly exceeds the action of cerebrolysine.