

## РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

### ЦЕРЕБРОПРОТЕКТИВНЫЙ ЭФФЕКТ ЦИТОФЛАВИНА ПРИ ЗАКРЫТОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

В. В. Бульон, И. В. Зарубина, А. Л. Коваленко, Л. Е. Алексеева, Н. С. Сапронов<sup>1</sup>

Изучали действие комплексного препарата цитофлавин при закрытой черепно-мозговой травме, вызванной дозированным ударом свободно падающего тела на теменную область у крыс. Показано корригирующее влияние этого препарата на изменения энергетического метаболизма, перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в нервной ткани. Цитофлавин значительно снижал посттравматический отек головного мозга. Сравнительная оценка церебропротективных эффектов цитофлавина и солкосерила выявила некоторое преимущество первого.

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, гипоксия, антигипоксанты, антиоксиданты, цитофлавин, солкосерил

#### ВВЕДЕНИЕ

Гипоксия головного мозга, являющаяся одним из основных патогенетических факторов острой черепно-мозговой травмы (ЧМТ), вызывает значительные изменения энергетического метаболизма и гиперактивацию перекисного окисления липидов (ПОЛ) в нервной ткани [6, 8, 9]. В результате травматического повреждения в мозге отмечается накопление молочной кислоты и продуктов ПОЛ, а также дефицит антиоксидантных ферментов. В связи с этим целесообразно включение в комплексную терапию травматической болезни головного мозга препаратов, способных корригировать энергетический обмен, ингибировать свободнорадикальное окисление и реактивировать антиоксидантные системы (АОС). К таким препаратам относится цитофлавин (НТФФ “Полисан”) — комплексный препарат, в состав которого входят янтарная кислота (500 мг), рибоксин (100 мг), никотинамид (50 мг), рибофлавин-моноклеотид (10 мг), N-метилглюкамин — солнобилизатор (825 мг) и вода для инъекций (до 5 мл). Показано выраженное лечебное действие этого препарата при ишемии миокарда и при постишемической реперфузии головного мозга у крыс [1, 2].

Цель работы — оценка влияния цитофлавина на изменения в процессах энергообразования, ПОЛ, активности ферментов АОС и формирование отека головного мозга при закрытой ЧМТ.

#### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 200 беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г. Закрытую ЧМТ воспроизводили нанесением дозированного удара свободно падающим грузом на теменную область с помощью специального устройства. Всех животных делили на следующие группы: интактные; контроль (сутки после травмы); крысы, получавшие цитофлавин (1,5 мл/кг) и препарат сравнения солкосерил (0,5 мл/кг) в течение 7, 14 и 21-го дня после нанесения травмы. Контрольным животным вводили в равном объеме физиологический раствор. Препараты вводили внутривентриально в первые сутки через 30 мин после ЧМТ, а в дальнейшем ежедневно однократно на протяжении всего срока исследования. В гомогенатах, полученных из больших полушарий головного мозга, определяли следующие показатели энергетического обмена: содержание молочной и пировиноградной кислот [13], активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) [4] и сукцинатдегидрогеназы (СДГ) [5]. Интенсивность ПОЛ определяли по концентрации диеновых конъюгатов ненасыщенных жирных кислот (ДК) [11] и малонового диальдегида (МДА) [12]. О состоянии АОС судили по активности супероксиддисмутазы (СОД) [3] и содержанию восстановленного глутатиона [7]. В параллельных сериях эксперимента оценивали отек мозга по общему содержанию воды. С этой целью определяли разность массы целого сырого мозга и его сухого остатка, полученного после высушивания до постоянного веса. Рассчитывали коэффициент отека (КО) мозга по следующей формуле:  $КО = \frac{\text{масса общей воды в мозге}}{\text{масса тела животного}} \cdot 100$ . Статистическую обработку полученных данных проводили стандартными методами с применением *t*-критерия Стьюдента с помощью пакета прикладных программ STATGRAPHICS.

<sup>1</sup> Отдел нейрофармакологии (руководитель — член-корр. РАМН Н. С. Сапронов) НИИ экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12. Кафедра фармакологии Российской военно-медицинской академии МО РФ и научно-технологическая фармацевтическая фирма “Полисан”, Санкт-Петербург.

Влияние цитофлавина и солкосерила на некоторые показатели метаболизма и отек головного мозга у крыс с ЧМТ ( $M \pm m$ )

| Показатель                       | Интактная группа | Контроль      | 7-е сутки ЧМТ |                |                | 14-е сутки ЧМТ |                |                | 21-е сутки ЧМТ |                |                |
|----------------------------------|------------------|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                                  |                  |               | Плацебо       | Цитофлавин     | Солкосерил     | Плацебо        | Цитофлавин     | Солкосерил     | Плацебо        | Цитофлавин     | Солкосерил     |
| Лактат, мкМ/г                    | 2,13 ± 0,05      | 7,46 ± 0,13*  | 6,26 ± 0,18*  | 4,80 ± 0,03**  | 5,09 ± 0,19**  | 3,78 ± 0,32*   | 2,63 ± 0,03**  | 2,82 ± 0,05**  | 3,27 ± 0,07*   | 2,25 ± 0,04**  | 2,48 ± 0,01**  |
| Пируват, мкМ/г                   | 0,26 ± 0,01      | 0,05 ± 0,005* | 0,08 ± 0,01*  | 0,11 ± 0,005** | 0,09 ± 0,01    | 0,12 ± 0,11    | 0,18 ± 0,004** | 0,15 ± 0,01    | 0,18 ± 0,01*   | 0,21 ± 0,01**  | 0,18 ± 0,004   |
| Лактат/пируват                   | 8,2              | 149,2         | 78,2          | 43,6           | 56,5           | 31,5           | 14,6           | 18,8           | 18,2           | 10,7           | 13,8           |
| ЛДГ, мкМ НАДН/мг белка · мин     | 1,09 ± 0,05      | 4,01 ± 0,04*  | 3,24 ± 0,09*  | 1,84 ± 0,03**  | 2,08 ± 0,04**  | 2,63 ± 0,11*   | 1,47 ± 0,01**  | 1,71 ± 0,02**  | 1,48 ± 0,03*   | 1,05 ± 0,01**  | 1,23 ± 0,03**  |
| СДГ, нМ сукцината/мг белка · мин | 8,47 ± 0,20      | 2,90 ± 0,16*  | 3,81 ± 0,18*  | 6,00 ± 0,05**  | 4,91 ± 0,05**  | 4,18 ± 0,09**  | 7,54 ± 0,12**  | 5,56 ± 0,11**  | 6,31 ± 0,22*   | 10,13 ± 0,06** | 6,81 ± 0,17    |
| ДК, мкМ/г                        | 21,69 ± 0,28     | 45,05 ± 1,36* | 47,73 ± 0,51* | 34,73 ± 1,82** | 40,03 ± 0,57** | 35,59 ± 0,46*  | 27,05 ± 0,23** | 28,11 ± 0,11** | 28,21 ± 0,31*  | 22,65 ± 0,67** | 26,51 ± 0,36** |
| МДА, нМ/г                        | 6,56 ± 0,17      | 19,17 ± 0,64* | 10,94 ± 0,37* | 8,06 ± 0,20**  | 8,98 ± 0,05**  | 10,33 ± 0,16*  | 7,02 ± 0,25**  | 7,12 ± 0,15**  | 8,48 ± 0,15*   | 6,74 ± 0,09**  | 7,02 ± 0,13**  |
| СОД, А/мг белка                  | 3,11 ± 0,09      | 0,95 ± 0,04*  | 1,07 ± 0,05*  | 2,06 ± 0,02**  | 1,71 ± 0,03**  | 2,34 ± 0,08*   | 2,91 ± 0,03**  | 2,68 ± 0,03**  | 2,59 ± 0,08*   | 2,94 ± 0,07**  | 2,83 ± 0,02**  |
| ВГ, мкМ/г                        | 42,09 ± 0,69     | 18,62 ± 0,40* | 21,79 ± 0,40* | 35,63 ± 0,15** | 27,94 ± 0,19** | 33,53 ± 0,41*  | 37,06 ± 0,65** | 35,07 ± 0,13** | 35,91 ± 0,77*  | 40,98 ± 0,32** | 38,88 ± 0,15** |
| КО                               | 0,52 ± 0,04      | 1,00 ± 0,02*  | 0,73 ± 0,02*  | 0,62 ± 0,01**  | 0,66 ± 0,004** | 0,66 ± 0,01*   | 0,57 ± 0,009** | 0,63 ± 0,007** | 0,60 ± 0,01*   | 0,55 ± 0,005** | 0,57 ± 0,006** |

Примечание. Различия статистически значимы: \* — к интактной группе; \*\* — к группе плацебо при  $p < 0,05$ . В группах по 8 – 10 крыс.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования (таблица) показали, что в мозге крыс контрольной группы увеличивались количество лактата на 250 % и активность ЛДГ на 268 % по сравнению с этими показателями у интактных животных. Одновременно снижались содержание пирувата на 81 % и активность СДГ на 64 %. Соотношение лактат/пируват, являющееся показателем интенсивности гликолитического или аэробного пути образования энергии, возрастало с 8,2 до 149,2 (в 18 раз). Полученные данные указывают на значительное подавление механизмов аэробного превращения углеводов и усиление анаэробного гликолитического пути.

У животных контрольной группы отмечались гиперактивация ПОЛ и угнетение АОС в головном мозге. Это проявлялось увеличением концентрации ДК и МДА на 108 и 192 % соответственно, а также ингибированием активности СОД на 70 % и падением уровня ВГ на 56 %.

Известно, что накопление лактата, являющегося причиной метаболического ацидоза, и активация свободнорадикального окисления играют важную роль в формировании отека головного мозга [8, 9]. Результаты проведенного исследования показали, что у контрольных животных развивался значительный отек мозга. Об этом свидетельствует увеличение КО на 92 % по сравнению с таковым у интактных крыс.

У крыс, получавших плацебо, в мозге отмечалось снижение концентрации лактата и активности ЛДГ, а также увеличение содержания пирувата и активности СДГ на всех сроках ЧМТ. Однако к исходным значениям эти показатели не возвращались и на 21-й день. Соотношения лактат/пируват на 7, 14 и 21-е сутки ЧМТ равнялись 78,2, 31,5 и 18,2 соответственно (149,2 в контроле и 8,2 у интактных животных), что говорит об увеличении доли аэробного пути синтеза макроэргических соединений на фоне еще высокой активности гликолитических процессов.

В мозге животных, получавших плацебо, отмечалась положительная динамика снижения интенсивности ПОЛ и восстановления активности АОС на 7, 14 и 21-й день ЧМТ. Однако и на 21-е сутки аккумуляция продуктов ПОЛ оставалась достоверно выше, а активность АОС — достоверно ниже, чем у интактных крыс.

Цитофлавин оказывал позитивное действие на энергетический обмен головного мозга животных на всех сроках ЧМТ. По сравнению с плацебо, он способствовал заметному снижению интенсивности гликолиза и усилению аэробных процессов окисления субстратов. Следует отметить, что активность дыхательного фермента СДГ на 21-й день ЧМТ была достоверно выше, чем активность этого фермента у интактных крыс (на 19 %). Соотношение лактат/пируват под влиянием цитофлавина снижалось в 1,8, 2,2 и 1,7 раз на 7,

14 и 21-е сутки соответственно. Солкосерил, повышающий устойчивость нервных клеток к гипоксии [10], по своему эффекту на энергетический метаболизм уступал цитофлавинолу. Он снижал соотношение лактата/пируват на этих же сроках в 1,4, 1,7 и 1,3 раза.

Цитофлавин эффективно подавлял гиперактивацию ПОЛ и реактивировал АОС мозга. Он снижал концентрацию продуктов ПОЛ и повышал активность АОС к 21 дню ЧМТ до величин, достоверно не отличающихся от этих показателей у интактных крыс. Солкосерил по своему корректирующему эффекту несколько уступал цитофлавинолу.

Цитофлавин и солкосерил приводили к уменьшению отека головного мозга, причем эффект цитофлавина был более выражен. У животных, леченных этим препаратом, отек мозга составлял 19, 10 и 6 % на 7, 14 и 21-е сутки соответственно, в то время как при лечении солкосерилом 27, 21 и 10 %.

Изучение влияния препаратов на выживаемость экспериментальных животных также показало некоторое преимущество цитофлавина. Так спустя 2 дня после ЧМТ выживало 72,7 %, на фоне цитофлавина 89,5 % и солкосерила 84,2 % крыс.

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что цитофлавин проявляет высокий антигипоксический и антиоксидантный эффект при экспериментальной закрытой ЧМТ, значительно снижает посттравматический отек головного мозга.

## ВЫВОДЫ

1. Цитофлавин оказывает выраженное антигипоксическое и антиоксидантное действия при закрытой черепно-мозговой травме (ЧМТ): снижает концентрацию лактата и активность лактатдегидрогеназы; увеличивает содержание пирувата и активность

сукцинатдегидрогеназы; подавляет гиперактивацию ПОЛ, реактивирует антиоксидантную систему (АОС).

2. Цитофлавин способствует эффективному уменьшению посттравматического отека головного мозга.

3. Цитофлавин заметно превосходит солкосерил по своему влиянию на энергетический обмен, ПОЛ, АОС, отек мозга и выживаемость животных после ЧМТ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Бульон, Л. К. Хныченко, Н. С. Сапронов и др., *Бюл. exper. биол.*, № 2, 149 – 151 (2000).
2. В. В. Бульон, Л. К. Хныченко, Н. С. Сапронов и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, № 1, 27 – 29 (2002).
3. Е. Е. Дубинина, Л. А. Сальникова, Л. Ф. Ефимова, *Лаб. дело*, № 10, 30 – 33 (1983).
4. Н. Д. Ещенко, *Методы биохимических исследований*, М. И. Прохорова (ред.), ЛГУ, Ленинград (1982), сс. 224 – 226.
5. Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский, *Методы биохимических исследований*, сс. 210 – 212.
6. Е. Г. Педаченко, Д. А. Сутковой, А. Н. Лисяный и др., *Ж. вопр. нейрохир.*, № 4, 24 – 27 (1998).
7. Ф. Е. Путилина, *Методы биохимических исследований*, М. И. Прохорова (ред.), ЛГУ, Ленинград (1982), сс. 183 – 187.
8. В. А. Розанов, В. А. Цепколенко, Л. Э. Клаупик, *Ж. вопр. нейрохир.*, № 2, 37 – 41 (1998).
9. Д. А. Середа, Ю. К. Дейниченко, И. Ф. Белиничев, *Бюл. асоц. нейрохир.*, Украины, Киев (1998), вып. 5, сс. 47 – 48.
10. *Солкосерил: итоги и перспективы (сборник научно-практических статей)*, Ю. В. Лукьянов (ред.), Санкт-Петербург (1997).
11. И. Д. Стальная, *Современные методы в биохимии*, В. Н. Орехович (ред.), Москва (1977), сс. 63 – 64.
12. И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили, *Современные методы в биохимии*, сс. 66 – 68.
13. E. P. Marbach and M. H. Weil, *Clin. Chem.*, № 3, 314 – 325 (1967).

Поступила 26.11.02

## CEREBROPROTECTOR EFFECT OF CYTOFLAVIN ON A CLOSED CRANIOCEREBRAL TRAUMA MODEL

V. V. Bul'on, I. V. Zarubina, A. L. Kovalenko, L. E. Alekseeva, and N. S. Saproinov

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

The efficacy of a complex preparation cytoflavin was studied on rats with a model of closed craniocerebral trauma. Cytoflavin produced normalization of the energy exchange, lipid peroxidation, and antioxidant system functioning in nervous tissues. The treatment significantly reduced the degree of posttraumatic edema in the brain. The cerebroprotective action of cytoflavin was somewhat superior to the effect of the reference drug solcoseryl.