

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-2-3-10

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА КОРТЕКСИН® НА ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫЕ И СЕНСОМОТОРНЫЕ НАРУШЕНИЯ У КРЫС С ХРОНИЧЕСКИМ НАРУШЕНИЕМ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Д. В. Куркин¹, А. В. Калатанова², О. И. Авдеева², Д. А. Бакулин¹,
Д. В. Верхоляк¹, Е. И. Морковин¹, Н. С. Ковалев¹, М. А. Дубровина¹,
А. В. Смирнов¹, М. В. Шмидт¹, И. Н. Тюренков¹

Оценили эффективность курсового введения препарата Кортексин® (0,3; 1 и 3 мг/кг) в сравнении с препаратами Церебролизин® (179, 538 и 1614 мг/кг) и Актовегин® (200 мг/кг) на психоэмоциональные и сенсомоторные нарушения у крыс с хроническим нарушением мозгового кровообращения (ХНМК). ХНМК моделировали у крыс-самцов стенозированием общих сонных артерий на 50 %. Спустя 40 дней после операции животные получали 2 десятидневных курса терапии, разделенных периодом отмены в 10 дней. В качестве лечения животным соответствующих групп вводили один из следующих препаратов: плацебо, Кортексин® (0,3; 1 и 3 мг/кг), Церебролизин® (179, 538 и 1614 мг/кг) или Актовегин® (200 мг/кг). Перед и после лечения у животных оценивали психоневрологическое состояние: двигательную активность (в тесте “Открытое поле”), а также сенсомоторные нарушения (в тестах “Ротарод” и “Адгезивный тест”). Затем проводили морфометрию структур головного мозга. Моделирование ХНМК приводило к развитию выраженных нарушений сенсорной и моторной функций животных: снижению двигательной активности в тесте “Открытое поле” на 32 % ($p < 0,05$), снижению времени удержания на вращающемся стержне в тесте “Ротарод” на 66 % ($p < 0,05$), в “Адгезивном тесте” повышению времени обнаружения стикера с передних лап на 59 % ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичными показателями животных интактной группы, а также развитию патоморфологических изменений в моторном и сенсомоторном отделах церебральной коры, в частности значимому ($p < 0,05$) повышению относительного числа патологически изменённых нейронов соматосенсорной коры. Курсовое введение животным с ХНМК препаратов Кортексин® (в дозах 1 и 3 мг/кг), Церебролизин® (538 и 1614 мг/кг) и Актовегин® (200 мг/кг) способствовало улучшению сенсорно-моторных функций в “Адгезивном тесте” (снижению времени обнаружения стикера соответственно на 50, 45, 41, 61 и 49 % ($p < 0,05$)) и координации движений в тесте “Ротарод” (повышению времени удержания на вращающемся стержне соответственно на 160, 108, 178, 185 и 145 % ($p < 0,05$)). При повторении тестов в конце 10-дневного периода отмены лечения, отмеченная значимая положительная динамика сохранялась в группах, получавших Кортексин® (1 и 3 мг/кг) и Церебролизин® (538 и 1614 мг/кг). Повторный курс введения привел к развитию эффекта ($p < 0,05$) у тех же препаратов и в тех же дозах, как и первый курс. При исследовании головного мозга у животных, которым вводили Кортексин® в дозе 3 мг/кг или Церебролизин® в дозе 1614 мг/кг отмечено более низкое число патологически изменённых нейронов соматосенсорной коры на 23 и 28 % ($p < 0,05$) по сравнению с животными с ХНМК без лечения.

Ключевые слова: Кортексин®, Церебролизин®, Актовегин®, хроническая ишемия головного мозга; полипептидный препарат; крысы; психоневрологический дефицит; доклинические исследования.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время продолжается разработка и оптимизация фармакологических подходов для коррекции последствий нарушений мозгового кровообращения (НМК), которые являются одной из ведущих причин утраты трудоспособности. Применение препара-

¹ ФГБОУ ВО “Волгоградский государственный медицинский университет” Минздрава РФ, Россия, 400131, Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1.

² ЗАО “Фарм-Холдинг”, Россия, 198515, Санкт-Петербург, Стрельна, ул. Связи, 34-А.

тов, содержащих в своем составе комплекс естественных нейротрофических факторов, рассматривается как перспективная терапевтическая стратегия улучшения нейропластичности, нейрогенеза и функционирования клеток головного мозга (ГМ) в условиях ишемии. Кортексин®, Церебролизин® и Актовегин® широко применяются в неврологической практике при фармакотерапии последствий острых и хронических НМК [1, 8, 12].

Церебролизин® — экстракт головного мозга крупного рогатого скота и свиней, в котором были определены последовательности 14 635 пептидов, 8953 из которых могут модулировать активность 275 сигнальных белков человека, включая киназы CDK1 (Cyclin-dependent kinase 1), CDK2 (Cyclin-dependent kinase 1), TGFBR2 (Transforming growth factor, beta receptor II), GSK3 (Glycogen synthase kinase 3), mTOR (mammalian target of rapamycin) и проапоптотические каспазы CASP1 (Caspase-1), CASP3 (Caspase-3), CASP6 (Caspase-6), что может объяснить его нейротрофическое действие [2]. Актовегин® состоит из депротеинизированного гемодеривата телят и содержит около 200 биологически активных веществ, которые в комплексе оказывают выраженное нейропротективное и нейрорепаративное действие, облегчая метаболизм головного мозга в условиях ишемии/гипоксии и оказывая антиоксидантные эффекты [8]. Действующим веществом Кортексина® являются полипептиды коры головного мозга крупного рогатого скота (низкомолекулярные водорастворимые активные нейропептиды с молекулярной массой не более 10 кДа; олиго- и короткоцепочечные пептиды (90 %) и аминокислоты (10 %), микроэлементы). Кортексин® обладает большей тканевой специфичностью именно к коре больших полушарий и его нейропротективный эффект может быть более выраженным или достигнут применением меньшей дозы, поскольку преимущественно в коре больших полушарий сосредоточена метаболически активная мозговая ткань. Входящие в состав препарата пептиды, относят к классу цитомединов — естественных тканевых регуляторов, оказывающих ней-

ропротективное, стимулирующее нейро- и синаптогенез, улучшающее метаболизм действие. Основным механизмом нейропротективного действия Кортексина® связан с предупреждением апоптоза и гибели нервных клеток вследствие подавления образования активных форм кислорода, повышения нейропластичности [1].

Данных сравнительного исследования влияния названных препаратов на психоэмоциональные и сенсорно-моторные нарушения при ХНМК, выполненные в одном эксперименте, в доступной научной литературе нет, что и явилось целью данной работы.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все эксперименты были проведены в соответствии с законодательством РФ и техническими стандартами Евразийского Экономического Союза по надлежащей лабораторной практике (ГОСТ Р 53434-2009, ГОСТ Р 51000.4-2011) и в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза. Протокол исследования одобрен Региональным независимым этическим комитетом, регистрационный номер: ИРБ 00005839 IORG 0004900 (ONHRP). Протокол № 132 от 20.05.2019 г. После завершения эксперимента животных подвергли эвтаназии с использованием CO₂-камеры.

Исследование выполнено на 129 самцах крыс (масса тела 300 – 350 г, Филиал “Столбовая” ГУ НЦБМТ РАМН (Московская обл.)), которых содержали в стандартных условиях вивария с неограниченным доступом к корму и воде. Возраст животных к началу эксперимента составлял 40 – 42 недели, что соответствовало возрасту зрелых крыс.

Дизайн исследования

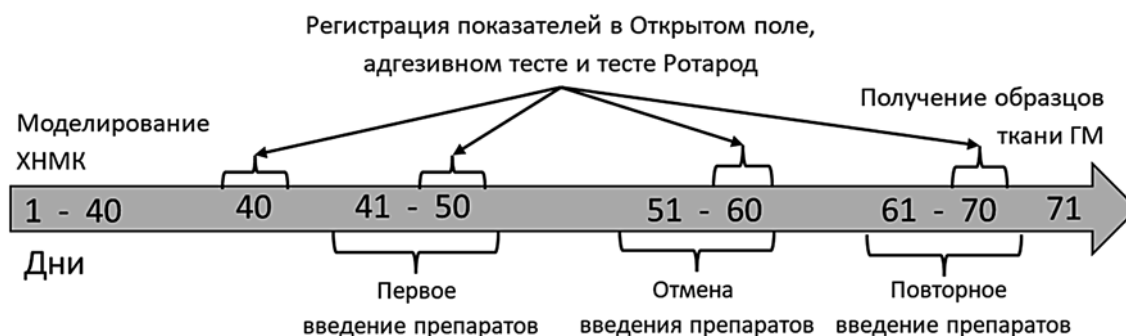
Характеристика экспериментальных групп представлена в табл. 1, график проведения манипуляций на рисунке.

Моделирование ХНМК

У наркотизированных животных (золетил + ксилазин 20 и 8 мг/кг соответственно, внутривенно), с двух сторон выделяли общие сонные артерии и опре-

Таблица 1. Характеристика групп

Препарат	Доза	Количество животных
Интактная группа		15
Плацебо р-р для инъекций (D-маннитол, ООО “Герофарм”, Россия)	7,5 мл/кг	13
Кортексин® (лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения 10 мг, серия — 900319, ООО “Герофарм”, Россия)	0,3 мг/кг	14
	1,0 мг/кг	15
	3,0 мг/кг	14
Церебролизин® (раствор для инъекций — концентрированный комплекс пептидов, полученных из головного мозга свиньи — 215,2 мг/мл, серия — В4РТ1А, ООО “ЭВЕР Нейро Фарма”)	0,83 мл/кг (179 мг/кг)	15
	2,5 мл/кг (538 мг/кг)	15
	7,5 мл/кг (1614 мг/кг)	13
Актовегин® (раствор для инъекций — концентрированный комплекс пептидов, полученных из крови телят в пересчете на сухой депротеинизированный гемодериват крови телят — 40 мг/мл; серия — 02040518, ООО “Такедафармасьютикал”)	200 мг/кг	15



Дизайн эксперимента.

деляли исходную скорость кровотока. Затем под каждую из них подводили нейлоновые нити, которые вместе с сосудом затягивали лигатурами до полного прекращения кровотока. После этого нейлоновые нити поочередно извлекали и сосуд расправлялся с частичным возобновлением кровотока. Диаметр нейлоновых нитей был подобран таким образом, чтобы после их извлечения из-за наложенных на сосуд лигатур скорость кровотока по нему составляла 50 % от начальных значений. Скорость кровотока по общим сонным артериям до и после стеноза регистрировали доплерографическим методом с использованием полиграфа MP150 (Biopac Systems, США) и модуля для лазер-доплеровской флоуметрии LDF100C (Biopac Systems, США). Далее рану обрабатывали 0,05 % раствором хлоргексидина и ушивали кисетным швом [4].

Психоэмоциональные и сенсомоторные нарушения у крыс с ХНМК оценивали с использованием тестов “Открытое поле”, “Ротарод” и “Адгезивный тест”.

Тест “Открытое поле” (ОП) предназначен для изучения поведения грызунов в новых условиях и позволяет по ряду поведенческих элементов выявить симптомы неврологического дефицита [3]. В течение 3 мин наблюдения за животным в установке оценивали двигательную активность (ДА, число пересечённых крысой квадратов в установке) и ориентировочно-исследовательскую активность (ОИА, сумма актов стоек на задних лапах и числа обследованных отверстий-норок за 3 мин наблюдения).

Двигательно-координационные нарушения у животных оценивали в тесте Ротарод (Аппаратно-программный комплекс “Ротарод”, ООО “Нейроботикс”, Россия), в котором фиксировали время удержания животных на вращающемся (25 об/мин) стержне в секундах с максимальным временем удержания 180 с [6].

Сенсорно-моторные нарушения фиксировали в “Адгезивном тесте”, который позволяет оценить нарушения сенсорной и моторной функции передних конечностей животных, т.е. способность к обнаружению и удалению инородного предмета (стикера), закрепленного на ладонной (волярной) поверхности передних лап [7]. Стикеры — квадратные (5 × 5 мм) отрезки лейкопластыря на тканевой основе (Верофарм, Рос-

сия). Фиксировали время обнаружения стикера (чувствительность) и его снятия (моторика).

Повреждение тканей ГМ оценивали стандартными методами морфометрических исследований. Степень повреждения нейронов оценивали по методике А. И. Чубинидзе. Нейроны разделили на 3 группы: нейроны нормальные, неизмененные (НН); слабоизмененные нейроны (СН) с сохранением ядра, но со структурными или тинкториальными нарушениями компонентов цитоплазмы (набухание, гиперхроматоз, хроматолиз, центральная тинкториальная ацидофилия); грубо измененные нейроны (ГН) — выраженное сморщивание, “тяжелое изменение”, гомогенизирующее изменение нейронов, клетки-тени [5]. Морфометрию проводили при окрашивании срезов по методу Ниссля. Определяли относительную плотность НН, СН и ГН. Микрофотосъемку гистологических препаратов осуществляли фотокамерой “Olympus” (Japan) на микроскопе “Micros” (Austria).

Через 40 дней после моделирования ХНМК и распределения животных по группам, исследуемые препараты вводили внутримышечно по следующей схеме: 10 дней терапевтическое введение, затем 10 дней перерыв и затем 10 дней повторное терапевтическое введение. Контрольной группе животных вводили плацебо в объеме, соответствующем максимальному объему введения исследуемых препаратов (7,5 мл/кг).

В качестве терапевтической дозы (далее ТД) доза Кортексина® для грызунов была выбрана 1 мг/кг [10], для оценки зависимости доза-эффект дополнительно были протестированы $1/3 \times \text{ТД}$ и $3 \times \text{ТД}$, что соответствует 0,3 и 3 мг/кг. Для препарата сравнения Церебролизин® ТД — 2,5 мл/кг [11]. В исследование был принят диапазон доз $1/3 \times \text{ТД}$, ТД и $3 \times \text{ТД}$, что соответствует 0,83, 2,5 и 7,5 мл/кг (соответственно 179, 538 и 1614 мг/кг). Оба препарата имеют общий источник получения (головной мозг свиньи или крупного рогатого скота) с тем отличием, что для получения Церебролизина® используется целый ГМ, а Кортексина® — только его кора. В связи с чем авторы посчитали целесообразным оценить эффективность данных препаратов в диапазоне доз. Для препарата Актовегин®, который

представляет собой депротеинизированный гемодериват крови телят была выбрана 1 ТД: 200 мг/кг [9].

Статистическую обработку результатов исследования проводили в программах Microsoft Office Excel 2016 (Microsoft, США) и Prism 6 (GraphPad Software Inc., США). Для проверки распределения на нормальность применяли критерий Шапиро — Уилка. Сравнение параметрических данных производили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (One-Way ANOVA) и *t*-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони. Непараметрические данные сравнивали с применением рангового однофакторного дисперсионного анализа Краскела — Уоллиса и критерия Данна. В итоговых таблицах данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего вместе со значением *n* (количество наблюдений). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В тесте “Открытое поле”, через 40 дней после операции (до начала лечения) у всех прооперированных животных по сравнению с интактными наблюдали сопоставимое снижение двигательной активности (ДА) и значительное уменьшение ориентировочно-исследовательской активности (ОИА) (табл. 2).

В конце первого периода лечения, у животных группы Плацебо, ДА и ОИА были по-прежнему значительно ниже, чем у интактных (на 55 и 42 % соответственно): крысы обследовали арену не полностью (меньше двигались, о чем свидетельствует меньшее число пересеченных квадратов), редко выполняли поведенческие акты, отражающие ориентировочно-исследовательскую активность.

У животных, которым курсом вводили Кортексин® в дозе 1 мг/кг или Церебролизин® в дозе 538 мг/кг — двигательная и ориентировочно-исследовательская активности были значительно выше (на 131 % (ДА группы Кортексин®); 125 и 127 % (ДА и ОИА группы Церебролизин®) соответственно) по сравнению с группой, получавшей плацебо.

В конце повторного курса лечения двигательная и ориентировочно-исследовательская активности были значительно выше только в группах, животным которых вводили Кортексин® в дозе 3 мг/кг или Церебролизин® в дозе 1614 мг/кг.

Для оценки координации и тонуса мышц конечностей животных, через 40 дней после моделирования ХНМК, а также после 10-дневных периодов лечения и отмены согласно дизайну (рис. 1) фиксировали время удержания на вращающемся стержне в тесте “Ротарод”. Через 40 дней после операции (до начала лечения) все прооперированные животные меньшее время, чем интактные удерживались на вращающемся стержне (табл. 3). После распределения животных все группы крыс с ХНМК по показателям в тесте “Ротарод” были сопоставимы между собой.

Через 10 дней первого курса лечения показатели животных, которым вводили плацебо в данном тесте, изменились незначительно. В группах животных с ХНМК, которым вводили Кортексин® в дозах 1 мг/кг, Церебролизин® в дозах 538 или 1614 мг/кг, а также Актовегин®, продолжительность удержания на вращающемся стержне была статистически значимо больше, чем в группе плацебо, что свидетельствует об улучшении координации движений на фоне проводимой терапии полипептидными препаратами.

Таблица 2. Показатели двигательной и ориентировочно-исследовательской активности у животных после моделирования хронического нарушения мозгового кровообращения в тесте “Открытое поле” ($M \pm m$)

Группа	<i>n</i>	40 сут после операции		Через 10 дней после					
				лечения		отмены лечения		повторного курса лечения	
		ДА	ОИА	ДА	ОИА	ДА	ОИА	ДА	ОИА
Интактная	15	30,3 ± 2,3	9,6 ± 0,9	26,9 ± 3,7	8,3 ± 1,4	22,8 ± 2,5	7,1 ± 1,3	19,9 ± 2,1	6,3 ± 1,3
Плацебо	13	20,5 ± 2,9[#]	5,8 ± 1,1[#]	12,1 ± 3,3[#]	4,8 ± 0,9[#]	12,5 ± 1,9[#]	3,5 ± 0,5[#]	9,5 ± 1,9[#]	2,5 ± 0,6[#]
Кортексин® (0,3 мг/кг)	14	24,2 ± 2,8	6,3 ± 1,1	18,4 ± 3,1	6,1 ± 1,5	13,2 ± 2,3	3,4 ± 0,6	18,1 ± 2,6	5,3 ± 1
Кортексин® (1 мг/кг)	15	22,0 ± 2,8	6,4 ± 0,9	27,9 ± 5,8*	7,5 ± 1,5	18,1 ± 4,2	5,1 ± 0,7	18,7 ± 2,1	5,5 ± 0,9
Кортексин® (3 мг/кг)	14	23,3 ± 3,4	6,1 ± 1,1	26,5 ± 2,9	7,6 ± 1,2	17,9 ± 3,8	5,5 ± 1,4	23,1 ± 3,5*	7,4 ± 1,7*
Церебролизин® (179 мг/кг)	15	23,5 ± 3,0	6,2 ± 1,2	21,3 ± 4,4	6,0 ± 1,3	14,5 ± 2,5	4,3 ± 0,8	15,7 ± 3,7	5,5 ± 1,7
Церебролизин® (538 мг/кг)	15	22,7 ± 3,2	6,7 ± 1,1	27,2 ± 4,5*	10,9 ± 1,7*	14,5 ± 3	5,4 ± 1,2	16,1 ± 4,7	5,7 ± 1,1*
Церебролизин® (1614 мг/кг)	13	22,4 ± 2,4	6,2 ± 1,1	23,6 ± 4,1	7,7 ± 1,6	18,8 ± 3,4	5,7 ± 1,4	20,2 ± 4*	7,0 ± 1,3*
Актовегин® (200 мг/кг)	15	23,6 ± 3,6	6,7 ± 1,2	22,2 ± 3,6	7,2 ± 1,7	13,6 ± 2,9	4,6 ± 1,1	15,5 ± 2,3	5,2 ± 1,1

Примечание: ДА — двигательная активность (число пересеченных крысой квадратов за 3 мин); ОИА — ориентировочно-исследовательской активность (сумма актов стоек и числа обследованных отверстий-норок); [#] — различия статистически значимы в сравнении с “Интактной” группой при $p < 0,05$; * — различия статистически значимы в сравнении с группой “Плацебо” при $p < 0,05$.

Через 10 дней после отмены препаратов, продолжительность удержания на вращающемся стержне в группах, получавших Кортексин® в дозе 1 мг/кг, Церебролизин® в дозе 1614 мг/кг и Актовегин® была выше, чем в группе плацебо, что подтверждает выраженное церебропротекторное действие полипептидных препаратов, сохраняющееся в условиях прекращения терапии.

В конце повторного курса лечения результаты были аналогичны отмеченным в первом периоде, животные, которым вводили Кортексин® в дозе 1 мг/кг, Церебролизин® в дозах 538 или 1614 мг/кг, а также Актовегин® значимо дольше, чем в группе плацебо держались на вращающемся стержне. В завершающую сессию тестирования животных на вращающемся стержне показало, что животные интактной группы удерживались на нём в 3 раза дольше получавших плацебо, а те, которым вводили Кортексин® в дозе 1 мг/кг, Церебролизин® в дозе 1614 мг/кг или Актовегин®, по этому показателю, превосходили их более чем в 2 раза. Эти данные свидетельствуют о наличии церебропротективного действия у исследуемых препаратов.

Важно отметить разницу показателей первого и последнего тестирования. После сравнения результатов, полученных во всех группах при первом тестировании животных на вращающемся стержне в тесте “Ротарод”, нами отмечено, что они были в 2–3 раза ниже, чем в конце курса введения препаратов. У животных группы плацебо к концу эксперимента (4 тестирования) продолжительность удержания на вращающемся стержне была только на 63 % дольше, чем в первой сессии, что можно объяснить развитием дегенеративных нарушений в мозге вследствие ХНМК. В последнем тестировании животных в тесте “Ротарод”, те, которым вводили исследуемые препараты в эффективных дозах, они в 3–4 раза дольше, чем в первой сессии, держались на вращающемся стержне. Это можно объ-

яснить эффектом тренировки и нейропротективным действием, оказываемым вводимыми препаратами.

Умеренный неврологический дефицит, в частности, сенсомоторные нарушения, затрудняющие выполнение тонких манипуляций, являются частыми осложнениями НМК, которые затрудняют выполнение повседневных и профессиональных функций.

По результатам “Адгезивного” теста было отмечено, что до начала лечения все животные с ХНМК тратили больше времени на обнаружение и избавление от инородного предмета, закрепленного на передних лапах. После начала лечения в группе, получавшей плацебо, различия по времени обнаружения и снятия стикера (выраженность сенсомоторных нарушений) относительно интактной группы, оставались статистически значимыми на всем протяжении исследования (табл. 4).

В первый период лечения, после его отмены и повторного курса в группах, получавших Кортексин® в дозах 1 и 3 мг/кг или Церебролизин® в дозе 1614 мг/кг, латентный период обнаружения и снятия стикера был значительно меньше по сравнению с теми, кому вводили плацебо. Эти показатели отражают динамику восстановления сенсорно-моторной функции в данных группах и указывают на выраженное нейропротективное действие у Кортексина® и Церебролизина®.

Моделирование ХНМК у крыс путем стенозирования общих сонных артерий вызывало слабые и умеренно выраженные патоморфологические изменения в нейронах церебральной коры. В моторных и соматосенсорных функциональных отделах патоморфологические изменения, в большинстве случаев, сводились к гиперхромии цитоплазмы перикарионов и отростков, изменению формы перикарионов и усилению базофилии ядер нейронов пирамидного слоя. В некоторых нейронах фиксировались признаки гидропической дистрофии с появлением единичных вакуолей в цитоплазме перикарионов. Выраженные пикноморф-

Таблица 3. Время удержания животных с хроническим нарушением мозгового кровообращения на вращающемся стержне в тесте “Ротарод” (с) ($M \pm m$)

Группа	n	40 сут после операции	Через 10 дней после		
			лечения	отмены лечения	повторного курса лечения
Интактная	15	35,8 ± 4,68	51,9 ± 16,00	60,2 ± 19,51	62,2 ± 17,10
Плацебо	13	12,2 ± 6,08[#]	16,5 ± 4,40[#]	18,3 ± 3,61[#]	19,9 ± 5,78[#]
Кортексин® (0,3 мг/кг)	14	7,7 ± 1,66	23,1 ± 8,73	19,3 ± 5,11	30,5 ± 8,58
Кортексин® (1 мг/кг)	15	11,5 ± 5,05	42,9 ± 7,28*	37,1 ± 4,16*	47,9 ± 5,32*
Кортексин® (3 мг/кг)	14	11,6 ± 5,02	34,3 ± 10,31	31,6 ± 7,27	41,6 ± 10,37
Церебролизин® (179 мг/кг)	15	14,9 ± 4,95	26,2 ± 11,00	22,5 ± 6,21	30,9 ± 12,07
Церебролизин® (538 мг/кг)	15	10,9 ± 3,88	45,8 ± 9,01*	37,1 ± 12,10	49,5 ± 7,02*
Церебролизин® (1614 мг/кг)	13	15,0 ± 3,70	47,0 ± 9,27*	44,7 ± 4,58*	54,8 ± 10,18*
Актовегин® (200 мг/кг)	15	14,9 ± 5,47	40,4 ± 6,03*	37,7 ± 4,23*	44,7 ± 4,86*

Примечание: [#] — различия статистически значимы в сравнении с “Интактной” группой при $p < 0,05$; * — различия статистически значимы в сравнении с группой “Плацебо” при $p < 0,05$.

ные изменения были отмечены только в отдельных клетках. По сравнению с интактными животными в группах с ХНМК численная плотность поврежденных нейронов была выше в моторной и, в большей степени, соматосенсорных областях церебральной коры.

При изучении эффективности препарата Церебролизин[®], выявлялась дозозависимая вариабельность характера морфологических изменений в различных структурах ГМ. Так, фармакотерапия препаратом Церебролизин[®] в дозе 179 мг/кг не оказывала существенного протективного эффекта в отношении различных функциональных отделов церебральной коры. При увеличении вводимой дозы до 538 и 1614 мг/кг отмечено, что численная плотность поврежденных нейронов в соматосенсорной области коры у этих крыс была статистически значимо меньше.

Комплексный анализ морфологических изменений структур ГМ крыс с ХНМК на фоне лечения препаратом Кортексин[®] обнаружил сходные закономерности, связанные с усилением нейропротективного эффекта по мере увеличения дозы препарата. Терапия хронической недостаточности мозгового кровообращения препаратом Кортексин[®] в дозе 0,3 мг/кг не оказала заметного влияния на характер и выраженность нейродистрофических процессов, а в дозе 1 и 3 мг/кг данный препарат способствовал уменьшению количества поврежденных нейронов в соматосенсорной и моторной областях церебральной коры.

Препарат Актовегин[®] оказывал церебропротекторное действие, выражающееся в снижении степени нейродегенеративных изменений в соматосенсорной области коры больших полушарий, в других же отделах ГМ значимый эффект отсутствовал.

Анализ полученных результатов морфологического исследования позволяет сделать вывод о том, что наиболее значимое протективное действие в отношении структур церебральной коры оказали препараты Церебролизин[®] в дозе 538 и 1614 мг/кг и препарат Кортексин[®] в дозах 1 и 3 мг/кг. Полученные результаты патоморфологического исследования позволили объяснить поведение животных в проведенных психофармакологических тестах, в которых типичными и наиболее очевидными нарушениями функционирования ЦНС являлись нарушения мелкой моторики.

Обобщенные данные морфологического исследования представлены в табл. 5 и разнесены по степени поврежденности клеток.

Таким образом в условиях экспериментального ХНМК, курсовое ведение пептидных препаратов, полученных из коры или целого ГМ животных (Кортексин[®] и Церебролизин[®]), либо содержащих депротеинизированный гемодериват крови телят (Актовегин[®]) способствовало снижению выраженности нейродегенеративных изменений в нейронах соматосенсорной коры ГМ, что сопровождалось уменьшением сенсорномоторных и координационных нарушений у экспериментальных животных. Церебропротекторное действие Кортексина[®] и Церебролизина[®] было сопоставимо и в ряде тестов превышало таковое у Актовегина[®]. Терапевтический эффект препаратов сохранялся после 10-дневной отмены лечения, и также развивается после повторного 10-дневного курса введения.

ВЫВОДЫ

1. У животных с хроническим нарушением мозгового кровообращения (ХНМК), получавших Кортексин[®] в дозах 1 и 3 мг/кг и Церебролизин[®] в дозах 538 и

Таблица 4. Среднее время обнаружения или снятия стикера в Адгезивном тесте животными с хроническим нарушением мозгового кровообращения (с) ($M \pm m$)

Группа	n	40 сут после операции		Через 10 дней после					
				лечения		отмены лечения		повторного курса лечения	
		$t_{\text{обн}}$	$t_{\text{сн}}$	$t_{\text{обн}}$	$t_{\text{сн}}$	$t_{\text{обн}}$	$t_{\text{сн}}$	$t_{\text{обн}}$	$t_{\text{сн}}$
Интактная	15	98,3 ± 18,5	107,6 ± 18,7	76,1 ± 16,1	93,5 ± 16,9	78,0 ± 18,3	106,4 ± 16,3	60,8 ± 15,8	66,8 ± 15,4
Плацебо	13	156,6 ± 12,8[#]	165,3 ± 8,02[#]	157,9 ± 9,5[#]	173,0 ± 4,9[#]	128,0 ± 15,8[#]	142,5 ± 12,5[#]	118,7 ± 16,9[#]	143,9 ± 15,1[#]
Кортексин [®] (0,3 мг/кг)	14	145,8 ± 13,8	168,5 ± 7,9	107,6 ± 17	127,2 ± 15,3	100,0 ± 17,7	115,7 ± 16,4	80,8 ± 17,7	85,5 ± 17,1
Кортексин [®] (1 мг/кг)	15	144,6 ± 15,0	164,3 ± 7,7	78,8 ± 15,5*	109,3 ± 17,5*	63,0 ± 13,5*	89,0 ± 15,5	52,8 ± 12,9*	67,0 ± 12,7*
Кортексин [®] (3 мг/кг)	14	143,9 ± 16,4	152,1 ± 15,0	87,5 ± 20,1*	90,8 ± 19,3*	61,1 ± 13,9*	69,8 ± 14,3*	60,0 ± 17,6*	64,9 ± 16,9*
Церебролизин [®] (179 мг/кг)	15	148,8 ± 16,8	149,7 ± 16,4	108,7 ± 20	123,8 ± 18,4	91,0 ± 19,3	119,1 ± 18,3	96,7 ± 20,2	98,2 ± 19,8
Церебролизин [®] (538 мг/кг)	15	152,4 ± 14,2	162,5 ± 10,7	93,4 ± 15,5	121,8 ± 13,9	76,0 ± 18,4*	98,9 ± 17,4	70,3 ± 20,6	74,8 ± 20,4*
Церебролизин [®] (1614 мг/кг)	13	149,8 ± 16,9	150,8 ± 16,3	61,8 ± 13,9*	85,7 ± 14,3*	47,7 ± 15,9*	65,8 ± 18,7*	44,7 ± 15,2*	48,8 ± 14,7*
Актовегин [®] (200 мг/кг)	15	137,2 ± 18,9	158,9 ± 14,4	80,9 ± 15,9*	124,8 ± 15,8	70,9 ± 14	117,1 ± 16,1	66,2 ± 16,3	108,4 ± 18,8

Примечание: $t_{\text{обн}}$ — время обнаружения инородного предмета; $t_{\text{сн}}$ — время снятия (удаления) инородного предмета; [#] — различия статистически значимы в сравнении с Интактной группой при $p < 0,05$; * — различия статистически значимы в сравнении с группой "Плацебо" при $p < 0,05$.

Таблица 5. Морфологическая характеристика нейродегенеративных изменений нейронов пирамидного слоя различных функциональных отделов коры головного мозга животных с хроническим нарушением мозгового кровообращения (%) ($M \pm m$)

Группа	n	Функциональные области коры головного мозга					
		Моторная			Соматосенсорная		
		Степень патоморфологических изменений					
		НН	СН	ГН	НН	СН	ГН
Интакт	7	85,66 ± 4,26	14,34 ± 4,26	-	93,50 ± 1,39*	6,50 ± 1,39*	-
Плацебо	7	65,09 ± 4,97	21,13 ± 4,01	7,78 ± 4,34	59,7 ± 2,69	38,02 ± 3,38	2,25 ± 1,55
Кортексин® (0,3 мг/кг)	7	66,84 ± 5,24	31,91 ± 4,96	1,25 ± 0,88	75,01 ± 5,52	24,99 ± 5,52	-
Кортексин® (1 мг/кг)	7	79,27 ± 3,77	20,73 ± 3,77	-	87,66 ± 2,65*	12,34 ± 2,65*	-
Кортексин® (3 мг/кг)	7	75,43 ± 4,37	24,57 ± 4,37	-	85,28 ± 2,20*	14,72 ± 2,20*	-
Церебролизин® (179 мг/кг)	8	83,74 ± 3,57	16,26 ± 3,57	-	77,55 ± 3,99	22,45 ± 3,99	-
Церебролизин® (538 мг/кг)	7	82,12 ± 3,76	17,88 ± 3,76	-	81,20 ± 2,78	18,80 ± 2,78*	-
Церебролизин® (1614 мг/кг)	6	80,90 ± 4,48	19,10 ± 4,48	-	90,10 ± 2,30*	9,90 ± 2,30*	-
Актовегин® (200 мг/кг)	7	67,33 ± 7,36	32,67 ± 7,36	-	77,88 ± 3,92	22,12 ± 3,92*	-

Примечание: НН — неизмененные (нормальные) нейроны; СН — слабоизмененные нейроны; ГН — грубо измененные нейроны; “-” — изменения не наблюдались; * — показатели статистически значимо отличаются от группы “Плацебо” при $p < 0,05$.

1614 мг/кг наблюдалось снижение выраженности нейродистрофических процессов в соматосенсорной области церебральной коры в среднем на 26, 23, 19 и 28 % ($p < 0,05$) по сравнению с животными с ХНМК, которые получали плацебо.

2. У животных с ХНМК Кортексин® (1 и 3 мг/кг) и Церебролизин® (538 и 1614 мг/кг) при курсовом введении сравнению с группой “Плацебо” способствовали улучшению сенсорно-моторных функций в “Адгезивном” тесте (что проявлялось снижением времени обнаружения стикера соответственно на 50, 45, 41, 61 % ($p < 0,05$)) и улучшению координации движений в тесте “Ротарод” (что проявлялось повышением времени удержания на вращающемся стержне соответственно на 160, 108, 178, 185 % ($p < 0,05$)). Актовегин® (200 мг/кг) улучшал координацию в тесте “Ротарод” на 145 % ($p < 0,05$).

3. Значимое положительное влияние на сенсомоторную функцию передних конечностей и координацию движений у животных с ХНМК препаратов Кортексин® (в дозах 1 и 3 мг/кг), Церебролизин® (в дозах 538 и 1614 мг/кг) и Актовегин® (200 мг/кг) сохранялось через 10 дней после прекращения введения и также развивалось после повторного 10-дневного курса лечения.

4. Церебропротекторный эффект препарата Кортексин® при его введении в дозах 1 и 3 мг/кг был сопоставим с таковым у препарата Церебролизин® вводимого в дозах 538 и 1614 мг/кг, в ряде тестов превышал таковой у препарата Актовегин® (200 мг/кг).

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование выполнено при финансовой поддержке ЗАО “Фарм-Холдинг”. Авторы статьи подтвер-

ждают отсутствие конфликта интересов и свою независимость при подготовке содержания статьи, пересмотрах статьи и формировании выводов.

ЛИТЕРАТУРА

1. О. А. Гомазков, *Журн. неврол. и псих. им. С. С. Корсакова*, **115**(8), 99 – 104 (2015); doi: 10.17116 / jnevro20151158199-104.
2. О. А. Громова, И. Ю. Торшин, В. Г. Згода, О. В. Тихонова, *Журн. неврол. и псих. им. С. С. Корсакова*, **119**(8), 75 – 83 (2019); doi: 10.17116 / jnevro201911908175.
3. Г. И. Ковалёв, Е. В. Васильева, Р. М. Салимов, *Журн. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова*, **69**(1), 123 – 130 (2019); doi: 10.1134 / S0044467719010064.
4. Д. В. Куркин, Е. И. Морковин, Д. В. Верхоляк и др., *Вестник Волгоградского гос. мед. ун-та*, **1**(61), 36 – 39 (2017)
5. А. И. Чубинидзе, *Архив патологии*, № 11, 77 – 78 (1972).
6. M. Bohlen, A. Cameron, P. Metten, et al., *J. Neurosci. Methods*, **178**(1), 10 – 14 (2009); doi: 10.1016 / j.jneumeth.2008.11.001.
7. V. Bouet, M. Boulouard, J. Toutain, et al., *Nat. Protoc.*, **4**(10), 1560 – 1564 (2009); doi: 10.1038 / nprot.2009.125.
8. A. Guekht, I. Skoog, S. Edmundson, et al., *Stroke*, **48**(5), 1262 – 1270 (2017); doi: 10.1161 / strokeaha.116.014321.
9. S. Meilin, F. Machicao, M. Elmlinger, *J. Cell Mol. Med.*, **18**(8), 1623 – 1630 (2014); doi: 10.1111 / jcm.12297.
10. I. V. Zarubina, P. D. Shabanov, *Bul. Exp. Biol. Med.*, **160**(4), 448 – 451 (2016); doi: 10.1007 / s10517-016-3193-9.
11. L. Zhang, M. Chopp, M. Lu, et al., *Int. J. Stroke.*, **11**(3), 347 – 355 (2016); doi: 10.1177 / 1747493015625645.
12. Y. Zhang, M. Chopp, Z. G. Zhang, et al., *Neurorehabil. Neural Repair.*, **33**(1), 15 – 26 (2019); doi: 10.1177 / 1545968318809916.

Поступила 11.06.20

EFFECT OF CORTEXIN PREPARATION ON PSYCHOEMOTIONAL AND SENSORIMOTOR DISORDERS IN RATS WITH CHRONIC BRAIN ISCHEMIA

D. V. Kurkin¹, A. V. Kalatanova², O. I. Avdeeva², D. A. Bakulin¹, D. V. Verkholiyak¹, E. I. Morkovin¹, N. S. Kovalev¹, M. A. Dubrovina¹, A. V. Smirnov¹, M. V. Schmidt¹, and I. N. Tyurenkov¹

¹ Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1a, Volgograd, 400131 Russia

² Pharm Holding Co., ul. Svyazi 34-A, Strel'na, St. Petersburg, 198515 Russia

Efficiency of the course administration of Cortexin (0.3, 1 and 3 mg/kg) in comparison to Cerebrolysin (179, 538 and 1614 mg/kg) and Actovegin (200 mg/kg) was studied by treating coordination and sensorimotor disorders in male rats with chronic cerebrovascular insufficiency (CVI) modeled by 50% stenosis of the common carotid arteries. Test rats received two ten-day courses of therapy 40 days after surgery. Before and after treatment the animals were evaluated for motor activity (open-field test) and sensorimotor disorders (rotarod and adhesive test). Finally, the morphometry of brain structures was performed and analyzed. CVI led to the development of pronounced impairment to the sensory and motor functions of animals as manifested by 32% decrease in motor activity in the open-field test ($p < 0.05$), a 66% decrease in holding time in the rotarod test ($p < 0.05$), and 59% increase in the detection time of a sticker from the front paws in the adhesive test ($p < 0.05$), as well as by the development of pathomorphological changes in the motor and sensorimotor parts of the cerebral cortex as compared to similar indicators of intact animals ($p < 0.05$). The course administration of Cortexin (1 and 3 mg/kg), Cerebrolysin (538 and 1614 mg/kg) and Actovegin (200 mg/kg) to animals with CVI improved their sensory-motor functions in the adhesive test (decrease the time of sticker detection by 50, 45, 41, 61, and 49, respectively ($p < 0.05$)) and coordination in the rotarod test (increase in retention time on a rotating rod by 160, 108, 178, 185 and 145%, respectively ($p < 0.05$)). In the morphometric study of the brain in animals that were injected with Cortexin at a dose of 3 mg/kg or Cerebrolysin at a dose of 1614 mg/kg, a lower number of pathologically altered neurons of the somatosensory cortex was noted (by 23 and 28%, respectively, $p < 0.05$) as compared to animals with CVI without treatment.

Keywords: Cortexin; Cerebrolysin; Actovegin; chronic cerebrovascular insufficiency; peptide-containing drugs; rats; sensorimotor disorders; preclinical studies.