

18. Shaw A. C., Daniel R. Goldstein D. R., Ruth R., Montgomery R. R. *Nature Reviews Immunology*. 2013.13:875-887. doi:10.1038/nri35472013
19. Strekalova T., Evans M., Chernopiatko A., Couch Y., Costa-Nunes J., Cesputiglio R., Chesson L., Vignisse J., Steinbusch H. W., Anthony D. C., Pomytkin I., Lesch K. P. *Behavioral Brain Research*. 2015;277:237-244.
20. Zhukova G. V., Shikhliarova A. I., Soldatov A. V., Barteneva T. A., Goroshinskaya I. A., Petrosian V. I., Gudtskova T. N., Bragina M. I., Polozhentsev O. E., Sheiko E. A., Maschenko N. M., Shirnina E. A., Zlatnik E. Yu., Kachesova P. S., Kurkina T. A. *Biophysics*. 2016;61(2):303-315.

Сведения об авторах:

Шихлярова Алла Ивановна, доктор биологических наук, профессор, руководитель Испытательного лабораторного центра; тел.: 89054319267; e-mail: shikhliarova.a@mail.ru

Жукова Галина Витальевна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник; тел.: 89081942999; e-mail: galia_57@maul.ru

Кит Олег Иванович, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, директор; тел.: 88632001000; e-mail: onko-sekretar@mail.ru

Куркина Татьяна Анатольевна, научный сотрудник; тел.: 88632001000; e-mail: ta.kurkina@yandex.ru

Ширнина Елена Алексеевна, научный сотрудник; тел.: 88632001000; e-mail: shelalex@yandex.ru

Протасова Татьяна Пантелеевна, научный сотрудник; тел.: 88632001000; e-mail: rniol@mail.ru

Елкина Анна Анатольевна, аспирант кафедры радиофизики и нанотехнологий; тел.: 89180688381; e-mail: 013194@mail.ru

Барышев Михаил Геннадьевич, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры; тел.: 89183315915; e-mail: science-pro@kubsu.ru

© Коллектив авторов, 2018

УДК 616.831.-005.4

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13025>

ISSN – 2073-8137

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ 4-ГИДРОКСИ-3,5-ДИ-ТРЕТБУТИЛ КОРИЧНОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А. В. Воронков¹, В. Т. Абаев², Э. Т. Оганесян¹, Д. И. Поздняков¹

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета, Россия

² Северо-Осетинский государственный университет им. Коста Хетагурова, Владикавказ, Россия

SOME ASPECTS OF CEREBROPROTECTIVE ACTIVITY OF 4-HYDROXY-3,5-DI-TRETBOUTYLE OF CINNAMIC ACID IN ISCHEMIC DAMAGE OF THE BRAIN IN EXPERIMENT

Voronkov A. V.¹, Abaev V. T.², Oganesyanyan E. T.¹, Pozdnyakov D. I.¹

¹ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a branch
Volgograd State Medical University, Russia

² North Ossetian State University named after Costa Khetagurov, Vladikavkaz, Russia

Проведено исследование церебропротекторных свойств 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричной кислоты (АТАСЛ). Установлено, что в условиях фокальной ишемии головного мозга АТАСЛ способствует нормализации метаболических процессов в мозговой ткани: увеличению утилизации глюкозы на 305,5 % ($p < 0,02$), снижению образования лактата на 281,3 % ($p < 0,01$), уменьшению отека и зоны некроза на 5 % ($p < 0,02$) и на 123,9 % ($p < 0,02$) соответственно. При этом эффект от применения 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричной кислоты превосходил таковой от применения этилметилгидроксипиридина сукцината и тиоктовой кислоты и был сопоставим с эффектом винпоцетина.

Ключевые слова: ишемия, церебропротекция, производные коричной кислоты

Cerebroprotective properties of 4-hydroxy-3,5-di-tretboutyle cinnamic acid (ATACL) have been studied. It has been established that in the conditions of focal brain ischemia, ATACL contributes to the normalization of metabolic processes in the brain tissue: an increase in the utilization of glucose by 305.5% ($p < 0.02$), a 281.3 % decrease in

lactate formation ($p < 0.01$), reduction of edema and necrosis zone by 5% ($p < 0.02$) and 123.9 % ($p < 0.02$), respectively. In this case, the effect of 4-hydroxy-3,5-di-tertbutyl cinnamic acid surpassed that of ethylmethyl hydroxypyridine succinate and thiocctic acid and was comparable to the effect of Vinpocetine.

Keywords: ischemia, cerebroprotective, derivatives of cinnamic acid

Инсульт является одной из ведущих причин смертности населения, инвалидизации и утраты трудоспособности [5, 8]. Несмотря на значительные успехи в выяснении патофизиологических механизмов инсульта на молекулярном и клеточном уровнях, данное состояние все также трудно поддается лечению, ввиду очень малого терапевтического окна (≤ 6 ч от момента инициации инсульта) [7]. Поэтому рациональным принципом фармакотерапии инсульта считается прямое воздействие на элементы «ишемического каскада», что в конечном итоге способно снизить нейрональную гибель, а следовательно, увеличить шансы на благоприятный исход заболевания [5, 7]. В связи с этим актуальной задачей медицинской химии и фармакологии можно по праву считать целенаправленный поиск соединений, обладающих церебропротекторной активностью.

Материал и методы. Исследование реализовано на 60 крысах-самцах линии Wistar, предварительно рандомизированных по возрасту (половозрелые) и массе (220–240 г), разделенных на 6 равных групп ($n=10$). Первая группа крыс – ложнооперированные (Л/О) животные. Второй (группа животных негативного контроля – НК) и последующим группам крыс воспроизводили ишемическое повреждение головного мозга методом необратимой окклюзии средней мозговой артерии. Третьей и далее экспериментальным группам животных *per os* вводили: винпoцетин («Кавинтон», Gedeon Richter, Венгрия) в дозе 3,2 мг/кг, этилметилгидроксипиридина сукцинат («Мексидол», ФАРМАСОФТ, Россия) в дозе 30 мг/кг (группа животных – ЭС), тиоктовую кислоту (Октолипен, Фармстандарт–Лексредства, Россия) в дозе 50 мг/кг и исследуемое соединение – 4-гидроксис-3,5-ди-третбутил коричную кислоту (АТАС) в дозе 100 мг/кг [1, 2]. Препараты сравнения и исследуемое соединение вводились непосредственно после воспроизведения ишемии и на протяжении 3 суток. По истечении указанного времени животных декапитировали под хлоралгидратным наркозом (350 мг/кг) и проводили оценку ряда параметров. Степень потребления глюкозы головным мозгом оценивали по разности сывороточной концентрации глюкозы в артериальной и венозной крови с использованием системы автоматического биохимического анализатора BS-380 (Mindray, КНР) и наборов реактивов «DiaSys»; уровень образования лактата оценивали энзиматическим колориметрическим методом с применением стандартного набора реактивов производства НПФ «Арбис+» (Санкт-Петербург, Россия). Для определения степени гидратации головного мозга у животных (5 крыс в группе) извлекался головной мозг, инкубировался при 60 °C 24 часа. О величине отека головного мозга судили по разнице его массы до и после инкубации. Оценку величины зоны некроза (5 крыс в группе) производили трифенилтетразолиевым методом, основанным на изменении оптической плотности хлороформного экстракта формазана между интактным и некротизированным участком ткани головного мозга. Размер зоны некроза рассчитывали в процентах к общей массе полушарий. Активность митохондриальной АТФ-синтетазы (мАТФ) оценивали методом твердо-

фазного иммуноферментного анализа набором реактивов производства Cloud Clone corp. (США). Считывание результатов производили на микропланшетном ридере Infinite F50 (Tecan, Австрия).

Результаты опытов обрабатывали методом вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., США для операционной системы Windows). Полученные данные проверяли на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро – Уилка. В случае нормального распределения данных для сравнения средних использовали t-критерий Стьюдента. При ненормальном распределении результатов эксперимента дальнейшую статистическую обработку данных проводили с использованием U-критерия Манна – Уитни.

Результаты и обсуждение. Оценивая уровень метаболизма глюкозы и образования лактата в ткани головного мозга ложнооперированных животных, установили, что интенсивность потребления глюкозы головным мозгом составляла $5,2 \pm 0,112$ ммоль/100 г в мин ($\times 10^{-3}$) (рис. 1), а образование молочной кислоты было на уровне $0,11 \pm 0,03$ ммоль/100 г в мин ($\times 10^{-3}$). При этом у Л/О группы крыс степень гидратации головного мозга составляла 75,2 % (рис. 2).

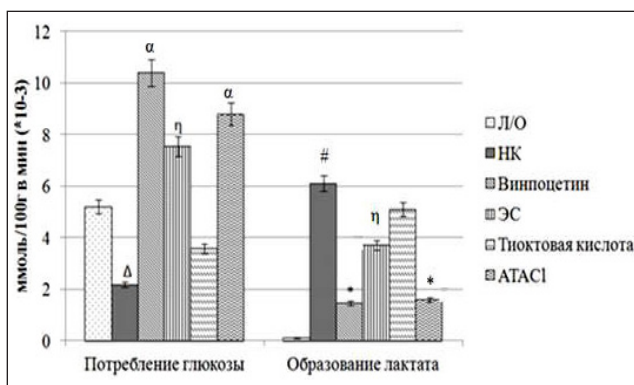


Рис. 1. Влияние соединения АТАС и препаратов сравнения на процессы утилизации глюкозы и образования лактата в ткани головного мозга крыс на фоне фокальной ишемии
Примечание: # – статистически значимо относительно Л/О группы крыс ($p < 0,02$); Δ – статистически значимо относительно Л/О группы животных ($p < 0,05$); * – статистически значимо относительно НК группы крыс ($p < 0,01$); α – статистически значимо относительно НК группы крыс ($p < 0,02$); η – статистически значимо относительно НК группы крыс ($p < 0,05$).
Во всех случаях использован U-критерий Манна – Уитни

В группе крыс негативного контроля на фоне ишемии головного мозга отмечено снижение утилизации глюкозы головным мозгом по сравнению с ложнооперированными животными на 139,6 % ($p < 0,05$). Одновременно у НК группы крыс наблюдалось повышение концентрации молочной кислоты относительно ложнооперированных животных в 55,5 раза ($p < 0,02$). Также в группе крыс негативного контроля на фоне фокальной ишемии головного мозга развивался выраженный отек мозговой ткани, о чем свидетельствует повышение степени гидратации относительно Л/О крыс на 8 % ($p < 0,05$). При этом процент некротизированной ткани головного мозга (см.

рис. 2) у НК группы крыс составлял 25,3 %. Кроме того, на фоне фокальной ишемии головного мозга у крыс НК наблюдалось уменьшение активности мАТФ по сравнению с Л/О группой животных на 129,1 % ($p < 0,05$) (табл.).

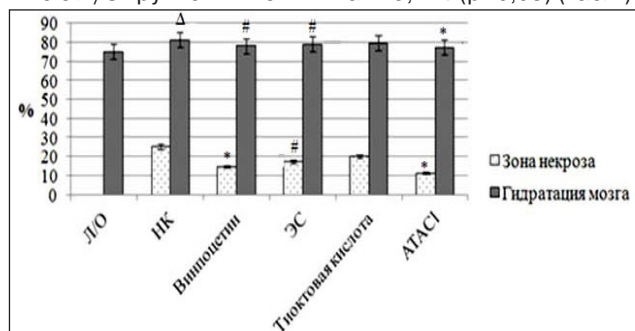


Рис. 2. Влияние соединения АТАСИ и препаратов сравнения на степень гидратации и размер зоны некроза головного мозга на фоне фокальной ишемии

Примечание: Δ – статистически значимо относительно Л/О группы животных ($p < 0,05$); * – статистически значимо относительно НК группы крыс ($p < 0,02$); # – статистически значимо относительно НК группы крыс ($p < 0,05$). Во всех случаях использован t-критерий Стьюдента

Таблица

Изменение концентрации митохондриальной АТФ-синтетазы в условиях коррекции ишемии головного мозга соединением АТАСИ

Показатель	Л/О	НК	ЭС	Тиоктовая кислота	Винпоцетин	АТАСИ
мАТФ, нг/мл	125,5 ± 20,894	54,77 ± 6,583#	72,05 ± 8,838*	79,32 ± 17,395*	94,57 ± 2,656*	67,66 ± 4,824*

Примечание: # – статистически значимо относительно Л/О группы животных ($p < 0,05$); * – статистически значимо относительно НК группы животных ($p < 0,05$). Использован U-критерий Манна – Уитни.

При применении винпоцетина у крыс, по отношению к группе животных негативного контроля, отмечено повышение степени утилизации глюкозы и уменьшение образования лактата на 379,3 % ($p < 0,02$), и 321 % ($p < 0,01$) соответственно. Также у животных данной группы наблюдалось уменьшение относительно НК группы крыс величины отека головного мозга на 3,8 % ($p < 0,05$), а зоны некроза – на 72,1 % ($p < 0,02$). Активность митохондриальной АТФ-синтетазы при этом увеличилась по сравнению с НК группой животных на 72,7 % ($p < 0,05$).

У крыс, получавших этилметилгидроксипиридина сукцинат, отмечено увеличение утилизации глюкозы тканью головного мозга по сравнению с НК группой крыс на 247,5 % ($p < 0,05$). Уровень образования молочной кислоты у данной группы животных был ниже по сравнению с группой крыс негативного контроля на 64,9 % ($p < 0,05$). Кроме того, применение этилметилгидроксипиридина сукцината в условиях ишемии головного мозга способствовало уменьшению отека мозговой ткани и размера зоны некроза, а также повышению активности мАТФ относительно НК группы крыс на 2,9 % ($p < 0,05$), 47,1 % ($p < 0,05$) и 31,6 % ($p < 0,05$) соответственно.

На фоне применения тиоктовой кислоты у крыс относительно НК группы животных статистически значимо возросла активность мАТФ на 44,8 % ($p < 0,05$). Остальные изучаемые параметры существенных изменений не претерпели.

Литература

1. Воронков, А. В. Сравнительная оценка влияния АТАСИ, мексидола и тиоктовой кислоты на антитромботическую функцию эндотелия и некоторые показатели со-

состояния периферической крови экспериментальных животных на фоне фокальной ишемии головного мозга / А. В. Воронков, Д. И. Поздняков, А. В. Мамлеев // Современные проблемы науки и образования. – 2016. –

Введение соединения АТАСИ на фоне фокальной ишемии головного мозга способствовало (по сравнению с группой животных негативного контроля) снижению выраженности лактат-ацидоза, о чем свидетельствует уменьшение образования молочной кислоты у крыс данной группы относительно НК группы животных на 281,3 % ($p < 0,01$). Уровень утилизации глюкозы, напротив, был выше (на 305,5 % ($p < 0,02$)) у крыс, получавших АТАСИ, нежели у животных НК группы. Процент гидратированности ткани головного мозга и величина зоны некроза у данной группы крыс были меньше, а активность мАТФ (см. табл.) выше соответственно на 5 % ($p < 0,02$), 123,9 % ($p < 0,02$) и 23,5 % ($p < 0,05$) по отношению к группе животных негативного контроля. При этом статистически значимых отличий между группами животных, которым вводили АТАСИ и винпоцетин, установлено не было.

Подобные изменения при применении 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричной кислоты, вероятно, связаны с антиоксидантными свойствами, которые присущи данному ряду соединений (производные коричной кислоты) [9]. Так, применение антиоксидантов в условиях ишемии головного мозга способствует уменьшению зоны «ишемической тени» и отека мозговой ткани. Метаболические изменения, вероятно, связаны со способностью производных коричной кислоты активировать АМФ-зависимую протеинкиназу (АМФК) – главный энергетический сенсор клетки [3]. В результате активируется транспортер GLUT3, что ведет к повышенной утилизации глюкозы головным мозгом [10]. Кроме того, активация АМФК и GLUT3 снижает токсические эффекты глутамата (уменьшение глутаматной эксайтотоксичности) [6], что может являться одной из составляющих церебропротекторного действия 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричной кислоты. Повышение активности мАТФ в условиях ишемии головного мозга способствует увеличению содержания АТФ, нормализации биоэнергетических процессов и, как следствие, снижению нейрональной гибели [4].

Выводы

1. Экспериментально вызванная фокальная ишемия головного мозга приводит к ухудшению энергетического обмена в ткани головного мозга (снижается степень утилизации глюкозы на 139,6 % ($p < 0,05$), повышается концентрация молочной кислоты в 55,5 раза ($p < 0,02$)), способствует развитию цитотоксического отека, значительному церебронекрозу (процент некротизированной ткани составил 25,3 %) и снижению энергообразования (уменьшение активности мАТФ на 129,1 %, $p < 0,05$).

2. Из препаратов сравнения наиболее благоприятное влияние на течение ишемического процесса оказал винпоцетин, который в равной степени способствовал восстановлению метаболических процессов мозговой ткани (утилизация глюкозы возросла на 379,3 % ($p < 0,02$), образование молочной кислоты уменьшилось на 321 % ($p < 0,01$)), уменьшению отека (на 8 %, $p < 0,05$) и зоны некроза (на 72,1 %, $p < 0,02$), увеличению активности мАТФ на 72,7 %, $p < 0,05$.

3. Применение 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричной кислоты способствовало нормализации всех изучаемых показателей. При этом утилизация глюкозы увеличилась на 305,5 % ($p < 0,02$), образование лактата снизилось на 281,3 % ($p < 0,01$), величина отека уменьшилась на 5 % ($p < 0,02$), а зона некроза – на 123,9 % ($p < 0,02$). Активность мАТФ, напротив, увеличилась на 23,5 % ($p < 0,05$). По совокупности данных введение 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричной кислоты было сопоставимо с эффектом от введения винпоцетина и превосходило таковой от применения этилметилгидроксипиридина сукцината и тиоктовой кислоты.

- № 2. Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24398> (дата обращения: 08.01.2017).
2. Назарова, Л. Е. Влияние кислоты феруловой на зону некроза, возникающего в результате окклюзии средней мозговой артерии / Л. Е. Назарова, И. Н. Дьякова // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. – № 3. – С. 133–135.
 3. Alam, M. A. Effect of Citrus Flavonoids, Naringin and Naringenin, on Metabolic Syndrome and Their Mechanisms of Action / M. A. Alam, N. Subhan, M. M. Rahman // *Adv. Nutrit.* – 2014. – Vol. 5(4). – P. 404–417. doi: 10.3945/an.113.005603
 4. Cha, M.-Y. Mitochondrial ATP synthase activity is impaired by suppressed O-GlcNAcylation in Alzheimer's disease / M.-Y. Cha, H. J. Cho, C. Kim // *Hum. Molec. Genet.* – 2015. – Vol. 24. – P. 6492–6504. doi: 10.1093/hmg/ddv358
 5. Cheng, Y. L. Evidence that collaboration between HIF-1 alpha and Notch-1 promotes neuronal cell death in ischemic stroke / Y. L. Cheng, J. S. Park, S. Manzanero [et al.] // *Neurobiol. Dis.* – 2014. – Vol. 62. – P. 286–295. doi: 10.1016/j.nbd.2013.10.009
 6. Culmsee, C. AMP-activated protein kinase is highly expressed in neurons in the developing rat brain and pro-

References

1. Voronkov A. V., Pozdnyakov D. I., Mamleev A. V. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. – Modern problems of science and education.* 2016;2. Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24398>
2. Nazarova L. E., D'yakova I. N. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana. – Medical bulletin of Bashkortostan.* 2011;3:133-135.
3. Alam M. A., Subhan N., Rahman M. M. *Adv. Nutrit.* 2014;5:404-417. doi: 10.3945/an.113.005603
4. Cha M.-Y., Cho H. J., Kim C. *Hum. Molec. Genet.* 2015;24:6492-6504. doi: 10.1093/hmg/ddv358
5. Cheng Y. L., Park J. S., Manzanero S., Choi Y., Baik S. H., Okun E., Gelderblom M., Fann D. Y., Magnus T., Launikonis B. S., Mattson M. P., Sobey C. G., Jo D. G., Arumugam T. V. *Neurobiol. Dis.* 2014;62:286-295. doi: 10.1016/j.nbd.2013.10.009

7. Lapchak, P. A. Neuroprotective and neurotrophic curcuminoids to treat stroke: a translational perspective // *Expert Opin. Investig. Drugs.* – 2011. – Vol. 20. – P. 13–22. doi: 10.1517/13543784.2011.542410
8. Nunez-Figueroa, Y. A novel multi-target ligand (JM-20) protects mitochondrial integrity, inhibits brain excitatory amino acid release and reduces cerebral ischemia injury in vitro and in vivo / Y. Nunez-Figueroa, J. Ramirez-Sanchez, G. Hansel // *Neuropharmacology.* – 2014. – Vol. 85. – P. 517–527. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.06.009
9. Rao, P. V. Cinnamon: A Multifaceted Medicinal Plant / P. V. Rao, S. H. Gan // *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM.* – 2014. doi: 10.1155/2014/642942
10. Weisova, P. Latrepirdine is a potent activator of AMP-activated protein kinase and reduces neuronal excitability / P. Weisova, S. P. Alvarez, S. M. Kilbride [et al.] // *Translational Psychiatry.* – 2013. – Vol. 3(10). – P. e317. doi: 10.1038/tp.2013.92
6. Culmsee C., Monnig J., Kemp B. E., Mattson M. P. *J. Mol. Neurosci.* 2001;17:45-58. doi: 10.1385/JMN:17:1:45
7. Lapchak P. A. *Expert Opin. Investig. Drugs.* 2011;20:13-22. doi: 10.1517/13543784.2011.542410
8. Nunez-Figueroa Y., Ramirez-Sanchez J., Hansel G. *Neuropharmacology.* 2014;85:517-527. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.06.009
9. Rao P. V., Gan S. H. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM.* 2014. doi:10.1155/2014/642942
10. Weisová P., Alvarez S. P., Kilbride S. M., Anilkumar U., Baumann B., Jordán J., Bernas T., Huber H. J., Düssmann H., Prehn J. H. *Translational Psychiatry.* 2013;10:e317. doi: 10.1038/tp.2013.92

Сведения об авторах:

Воронков Андрей Владиславович, доктор медицинских наук, доцент, зав. кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии; тел.: 89624273555; e-mail: prohor.77@mail.ru

Абаев Владимир Теймуразович, доктор химических наук, профессор, зав. кафедрой органической химии; тел.: 89635898996; e-mail: hampazero@mail.ru

Оганесян Эдуард Тонинович, доктор фармацевтических наук, профессор, зав. кафедрой органической химии; тел.: 89289114365; e-mail: edwardow@mail.ru

Поздняков Дмитрий Игоревич, аспирант; тел.: 89187560889; e-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2018

УДК 616.716.8

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13026>

ISSN – 2073-8137

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КРОВΟΣНАБЖЕНИЯ И ИННЕРВАЦИИ ПУЛЬПЫ ЗУБА ПРИ КАРИЕСЕ ЭМАЛИ И ДЕНТИНА

С. В. Сирак, М. Ю. Вафиади, Е. Г. Неминушчая, И. А. Копылова

Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

MORPHOLOGICAL FEATURES OF BLOOD SUPPLY AND INNERVATION OF THE TOOTH PULP WITH CARIES OF ENAMEL AND DENTIN

Sirak S. V., Vafiadi M. Yu., Neminushchaya E. G., Kopylova I. A.

Stavropol State Medical University, Russia

Рассматривается микроциркуляторная система пульпы зуба при кариесе эмали и дентина. Исследования проведены на 90 постоянных зубах, удаленных по хирургическим и ортодонтическим показаниям у пациентов в возрасте от 25 до 45 лет. Установлено, что при начальных стадиях кариеса эмали и дентина изменения нервов пульпы носят в основном гипертрофический характер. На более поздних сроках преобладают изменения резорбтивного характера. Изменения сосудов пульпы при кариесе наблюдаются уже при первых признаках забо-