

РОЛЬ СТРЕСС-ПРОТЕКТИВНОЙ ТЕРАПИИ В ТЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

УДК 616.831–005.4–002.3:615.3

Поступила 10.03.2015 г.



Е.А. Антипенко, к.м.н., доцент кафедры неврологии, психиатрии и наркологии ФПКВ¹;
М.Ю. Максимова, д.м.н., профессор, руководитель 2-го неврологического отделения²;
П.А. Солдатов, к.вет.н., доцент кафедры хирургии³

¹Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

²Научный центр неврологии, Москва, 125367, Волоколамское шоссе, 80;

³Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, Москва, 109472, ул. Академика Скрябина, 23

Цель исследования — определить клиническую и патогенетическую значимость стресс-протективной терапии в течении экспериментальной хронической ишемии головного мозга.

Материалы и методы. В отдаленном периоде экспериментальной ишемии мозга, моделированной с помощью окклюзии средней мозговой артерии, оценивали выживаемость и параметры поведенческой активности крыс линии Wistar, состояние окислительных процессов, показатели реактивности клеток крови, морфологические изменения ткани мозга.

Результаты. При моделировании хронической ишемии головного мозга у экспериментальных животных нарушение регуляции гомеостатических параметров сохранялось до 60 сут, что проявлялось изменением поведенческих и лабораторных показателей при отсутствии выраженных двигательных нарушений. Снижение активности адаптационно-компенсаторных процессов у животных в условиях хронической ишемии мозга приводило к уменьшению их выживаемости в период наблюдения на 56%. Сочетание базисной терапии с препаратами метаболического типа обеспечивает выживаемость 75% животных при применении антиоксиданта и 100% — при использовании стресс-лимитирующего средства. Включение стресс-лимитирующего препарата в терапевтический комплекс усиливает нейропротекторный эффект базисной терапии и нейротрофический эффект, поддерживая клеточный состав мозга во время хронической ишемии.

Заключение. Наличие нейропротекторного эффекта стресс-лимитирующего препарата при его применении в период хронической ишемии мозга подтверждает гипотезу о роли стрессовой реакции в патогенезе хронической ишемии головного мозга. Результаты экспериментального исследования подтвердили целесообразность включения антистрессового препарата в лечение хронической ишемии мозга.

Ключевые слова: хроническая ишемия мозга; стресс-протективная терапия.

English

The Role of Stress-Protective Therapy in the Course of Chronic Cerebral Ischemia

E.A. Antipenko, MD, PhD, Associate Professor, Department of Neurology, Psychiatry and Narcology, Faculty of Doctors' Advanced Training¹;

M.Y. Maksimova, MD, DSc, Professor, Head of the 2nd Neurological Unit²;

P.A. Soldatov, PhD, Associate Professor, Department of Surgery³

¹Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation;

²Neurology Research Center, 80 Volokolamskoe Shosse, Moscow, 125367, Russian Federation;

³Moscow State Academy of Veterinarian Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin, 23 Academician Skryabin St., Moscow, 109472, Russian Federation

The aim of the investigation is to determine clinical and pathogenetic value of stress-protective therapy in the course of experimental chronic cerebral ischemia.

Materials and Methods. In the remote period of the experimental cerebral ischemia, simulated by occlusion of the middle cerebral artery, the survival and parameters of the behavioral activity of Wistar rats, the state of oxidative processes, indices of blood cell reactivity, and morphological brain tissue changes have been assessed.

Для контактов: Антипенко Елена Альбертовна, e-mail: antipenkoea@gmail.com

Results. After simulation of chronic cerebral ischemia in the experimental animals impairment of homeostatic parameters regulation preserved for 60 days, manifesting themselves by alteration of behavioral and laboratory indices without marked movement disorders. Reduction of adaptive and compensatory process activity in animals in chronic cerebral ischemia resulted in the decrease of their survival in the observation period by 56%. A combination of basic therapy with metabolic-type preparations provided 75% survival rate when antioxidants were used, and 100% survival when stress-limiting preparations were given. Inclusion of stress-limiting preparations in the therapeutic complex intensifies neuroprotective effect of the basic therapy and causes neurotrophic effect, maintaining cellular composition of the brain during chronic cerebral ischemia.

Conclusion. Neuroprotective effect of the stress-limiting preparation, given in the period of chronic cerebral ischemia, proves the hypothesis on the role of stress reaction in the pathogenesis of this disease. Findings of the experimental investigation confirmed the usefulness of including antistress preparations to the therapeutic complex in managing chronic cerebral ischemia.

Key words: chronic cerebral ischemia; stress-protective therapy.

Согласованная и сбалансированная деятельность стрессогенной и стресс-лимитирующей систем обеспечивает устойчивость организма при воздействии повреждающих факторов в остром периоде адаптации [1–5]. С одной стороны, стресс является фактором риска развития ишемии мозга [6–9], с другой — недостаточность кровоснабжения мозга в качестве постоянно действующего стрессового фактора вызывает срыв адаптации и нарушение гомеостаза [10, 11]. В результате течения хронической ишемии головного мозга развивается комплекс компенсаторно-приспособительных реакций, направленных на восстановление нарушенного гомеостаза при срыве адаптации, обусловленном напряжением и дисбалансом между стрессовой и стресс-лимитирующей системами.

Известно, что стресс у животных характеризуется развитием различных гуморально-гормональных и свободнорадикальных реакций. В ряде исследований показано, что нейропротективная терапия повышает устойчивость к стрессу [12–14]. Экспериментальными исследованиями установлено, что значительно выраженной стресс-протективной активностью обладают синтетические аналоги нейропептидов и аминокислоты [15, 16]. Например, нейрохимическая организация лимбико-гипоталамо-ретикулярных структур у животных может быть изменена при дополнительном введении дельта-сон-индуцирующего пептида [17], который подавляет избыточное образование свободных радикалов и предупреждает гибель нейронов при стрессовых воздействиях [18].

Изучению постстрессовых изменений посвящено большое количество исследований, однако вопросы о роли стресса в прогрессировании хронической ишемии мозга остаются нерешенными. Практически не изучены особенности динамики постстрессовой реакции и морфофункциональные изменения в мозге, происходящие на различных стадиях хронической ишемии. Представленная работа посвящена решению этих вопросов.

Цель исследования — определить клиническую и патогенетическую значимость стресс-протективной терапии в течении экспериментальной хронической ишемии головного мозга.

Материалы и методы. Экспериментальная часть работы выполнена на базе ЦНИЛ и кафедры нормальной физиологии НижГМА (Н. Новгород). Исследования

проводились на 120 половозрелых самцах крыс линии Wistar массой 250–300 г в возрасте 3,5–4,0 мес. При этом неукоснительно соблюдались этические принципы, установленные Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.). Проведение исследования одобрено Этическим комитетом НижГМА. Содержание животных, хирургические вмешательства и эвтаназию осуществляли в соответствии с нормативами, представленными в руководстве «Guide for care and use of laboratory animals. ILAR publication, 1996, National Academy Press», и с требованиями приказа Минздрава РФ №267 от 19.06.03 «Об утверждении правил лабораторной практики в Российской Федерации». Животные содержались в виварии при свободном доступе к пище и воде, в условиях естественной смены дня и ночи.

Локальную ишемию мозга моделировали путем окклюзии ветви левой средней мозговой артерии и подходящей к ней вены с одновременной перевязкой ипсилатеральной внутренней сонной артерии. Объем очага инфаркта в группе животных, получавших физиологический раствор, составлял около 20% объема ипсилатерального полушария. Голову крысы фиксировали в боковом положении левой стороной вверх. После удаления шерстяного покрова и обработки операционного поля производили разрез кожи по ходу скуловой кости (около 2 см). Слюнную железу вместе с сосудистым сплетением отделяли от окружающих тканей, перемещали в задневерхний квадрат операционного поля и выполняли удаление скуловой кости. С помощью бормашины производили щадящий разрез нижнечелюстной кости по краю крепления к ней сухожилия височной мышцы. Затем поднимали крючками нижний край височной мышцы и обнажали височную ямку, дно которой образует крыловидная мышца с проходящим рядом нижнечелюстным нервом. С помощью ранорасширителя раздвигали крыловидную мышцу и открывали поверхность черепа между овальным отверстием и отверстием зрительного нерва. Под нижним краем височно-нижнечелюстного сустава сверлили отверстие диаметром около 2 мм и тем самым обнажали область средней мозговой артерии. Окклюзию левой ветви средней мозговой артерии производили проксимальнее участка разделения ее на лобную и теменную

ветви. Таким же способом выполняли окклюзию рядом расположенной мозговой вены до пересечения ее с артерией. Окклюзия достигалась с помощью электрокоагуляции электрохирургическим высокочастотным аппаратом ФОТЕК Е81 (ФОТЕК, Россия). После коагуляции кровотока по средней мозговой артерии прекращался, что можно было наблюдать под микроскопом. Сразу после коагуляции перевязывали лигатуру, на которой находилась внутренняя сонная артерия. После операции рану обрабатывали калийной солью пенициллина, кожу ушивали, шов обрабатывали 2% раствором йода.

Все животные были разделены на группы по 20 крыс:

1-я группа — интактные животные, которые не подвергались никакому воздействию;

2-я группа — «ложнооперированные» животные, которым было произведено хирургическое вмешательство без окклюзии артерий мозга и без какого-либо лечения.

Животные с экспериментальной хронической ишемией получали различные варианты фармакотерапевтического воздействия, вследствие чего были разделены на четыре группы:

3-я группа — контрольная, животным интраназально или внутрибрюшинно вводили 0,9% раствор NaCl;

4-я группа — животные получали только базисную терапию (пираретам по 200 мг/кг и винпоцетин по 0,7 мг/кг в сутки в течение 10 дней);

5-я группа — на фоне базисной терапии вводили внутрибрюшинно антиоксидант по 0,16 мл/кг в сутки в течение 10 дней;

6-я группа — животным совместно с базовой терапией интраназально вводили препарат стресс-лимитирующего действия, содержащий дельта-сон-индуцирующий пептид в дозе 150 мкг/кг в сутки в течение 10 дней.

Фармакологическое вмешательство начиналось на 10-е сутки после моделирования ишемии, поскольку в этот период происходила стабилизация функционального состояния с формированием хронической стадии ишемии мозга. Введение препаратов осуществлялось ежедневно в утренние часы.

Предварительная оценка устойчивости животных к стрессу не выполнялась, так как проведение необходимых тестов могло повлиять на динамику показателей стрессовой и компенсаторно-приспособительной реакций при дальнейшем лечении. Кроме того, использование в эксперименте животных линии Wistar, которые, как известно, являются малостойчивыми к стрессу, допускает сопоставление экспериментального и клинического материала.

Через 10 сут после моделирования острой ишемии регистрировали параметры компенсаторно-приспособительных реакций, свидетельствующих о дезадаптации и развитии хронической ишемии мозга. Динамику морфофункциональных показателей оценивали во всех группах на 10, 30 и 60-е сутки. Дальнейшее наблюдение считали нецелесообразным в связи с возможным началом возрастных изменений головного мозга.

Анализировали следующие показатели: параметры

поведенческой активности животных, состояние свободнорадикальных процессов, стрессовые реакции крови, морфологические изменения в ткани мозга в послеоперационном периоде (60-е сутки), выживаемость животных в отдаленном послеоперационном периоде (60-е сутки).

Кровь для биохимических анализов забирали в одно и то же время суток на 10-е и 60-е сутки.

Уровень тканевой гипоксии оценивали по содержанию лактата и пирувата в крови крыс. Количественное определение лактата проводили энзиматическим методом с использованием лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в глицин-гидрозиновом буфере. Методом индуцированной хемилюминесценции на хемилюминометре БХЛ-06 («Биофарм-автоматика», Россия) определяли интенсивность свободнорадикальных процессов в плазме крови крыс. Исследовали показатели лейкоцитарной формулы с подсчетом лейкоцитарного коэффициента и электрофоретическую подвижность эритроцитов (методом Харамоненко–Ракитянской). Проводили морфологическое исследование перифокальной области в пятом слое коры мозга, содержащем пирамидные нейроны, через 2 мес после моделирования ишемии. Образцы ткани мозга фиксировали в 10% растворе нейтральной формалина, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Срезы толщиной 7 мкм изготавливали на микротоме Leica SM 2000R (Leica, Германия) и окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Нисслю. Подсчет нейронов и клеток нейроглии в исследуемых полях зрения проводили при помощи светового микроскопа DMLS (Leica, Германия) и программы визуализации. Количество клеток оценивали на 15 срезах мозга у каждого животного.

Статистическая обработка материала выполнена с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., USA). Различия, полученные при сравнительном анализе, считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Установлено, что экспериментальная хроническая ишемия мозга приводит к значительно выраженным нарушениям поведения у крыс, которые сохраняются в течение всего периода наблюдения. Выявлено повышение тревожности, увеличение времени реакции замирания, снижение двигательной активности и обучаемости (табл. 1), характеризующие стрессовую реакцию и уменьшение компенсаторно-приспособительных возможностей у животных. Отсутствие двигательных нарушений (парезов и параличей) указывает на восстановление неврологических функций в период хронической ишемии. Частичная компенсация функций связана с особенностями кровоснабжения головного мозга у крыс, в частности с более развитой системой коллатерального кровотока.

При исследовании лабораторных показателей выявлены повышение электрофоретической подвижности эритроцитов и лейкоцитарного коэффициента, а также уменьшение содержания лимфоцитов (табл. 2) и активности процессов перекисного окисления липидов.

В периоде экспериментальной хронической ише-

Т а б л и ц а 1

Показатели поведенческой активности экспериментальных животных в период хронической ишемии (M±SEM)

Группы животных	УТ	РЗ	ВДА	ГДА	УРПИ
Интактные	6,7±1,8	28,8±8,2	11,5±1,9	106,8±15,7	23,0±2,8/120,0±1,8
«Ложнооперированные»	7,4±1,2	56,8±9,8	10,8±1,7	96,8±18,5	21,5±3,1/124,0±1,9
Хроническая ишемия мозга	11,3±0,5**	154,0±43,2**	2,6±3,1**	55,3±21,9**	63,0±20,5/109,4±12,1**

П р и м е ч а н и е: УТ — уровень тревожности, усл. ед.; РЗ — продолжительность реакции замирания, с; ВДА — вертикальная двигательная активность (количество стоек); ГДА — горизонтальная двигательная активность (количество пересеченных квадратов); УРПИ — условная реакция пассивного избегания: время обучения/время воспроизведения; * — статистически значимая разница значений с интактной группой (p<0,05); ** — с «ложнооперированными» животными (p<0,05).

Т а б л и ц а 2

Показатели стрессовой и компенсаторной реакций в условиях экспериментальной хронической ишемии мозга (M±SEM)

Группы животных	ЭФПЭ, мкм·см В ⁻¹ с ⁻¹	ЛК	Лактат/ пируват	I _{max} , мВ	S, усл. ед.	Ядерные/ безъядерные нейроны	Выживаемость, %
Интактные	1,31±0,02	7,10±0,07	3,2±1,0	3,1±0,2	32,9±1,5	4,6±0,3	100
«Ложнооперированные»	1,32±0,02	6,90±0,07	3,3±1,0	3,2±0,2	33,6±1,5	4,7±0,2	100
Хроническая ишемия мозга	1,46±0,07**	9,30±0,05**	16,8±2,6**	4,1±0,4**	61,4±0,6**	1,6±0,2**	44**

П р и м е ч а н и е: ЭФПЭ — электрофоретическая подвижность эритроцитов; ЛК — лейкоцитарный коэффициент; I_{max} — интенсивность процессов свободнорадикального окисления; S — светосумма. * — статистически значимая разница значений с интактными животными (p<0,05); ** — с «ложнооперированными» животными (p<0,05).

Т а б л и ц а 3

Количество клеток нейроглии и нейронов в перифокальной области пятого слоя коры мозга крыс (60-е сутки ишемии мозга)

Группы животных	Нейроны	Клетки нейроглии	Клетки нейроглии/нейроны
Интактные (n=20)	56,15±1,35*#	51,24±1,60*#	0,91±0,02*#
«Ложнооперированные» (n=20)	57,12±2,17*#	52,31±1,70*#	0,91±0,03*#
Контрольная группа (n=20)	41,26±2,23 ^{#v}	68,40±2,27 ^{#v}	1,66±0,06 ^{#v}
Базисная терапия (n=20)	48,18±2,34 ^v	62,52±2,21* ^v	1,29±0,02* ^v
Базисная и антиоксидантная терапия (n=20)	46,84±2,44 ^v	63,50±2,17* ^v	1,35±0,07* ^v
Базисная и стресс-лимитирующая терапия (n=20)	55,33±2,18*#	56,82±2,61*	1,020±0,023*#

П р и м е ч а н и е: данные представлены в формате M±SD, где M — среднее значение, SD — среднеквадратичное отклонение. * — статистически значимая разница значений с контрольной группой (p<0,05); # — с группой, получавшей только базисную терапию (p<0,05); ^v — с интактными животными (p<0,05).

мии мозга наблюдалось изменение соотношения нейроглии и нейронов в пятом слое коры мозга (табл. 3). Показатель нейроглии/нейроны у животных с ишемией мозга был на 77% выше по сравнению с интактными животными. Общее количество нейронов двигательной коры уменьшилось, показатель соотношения ядерных и безъядерных нейронов снизился.

Выживаемость в группе экспериментальных животных с хронической ишемией мозга через 60 сут была ниже, чем в группах интактных и «ложнооперированных» животных, что свидетельствует о недостаточности компенсаторных процессов.

Таким образом, при моделировании хронической

ишемии мозга сохраняется напряженность адаптационно-компенсаторных процессов, что проявляется изменением поведенческих и лабораторных показателей. Предполагается, что при таком длительно действующем стресс-факторе, как локальная ишемия, нарушен баланс в про- и антистрессовой системе, что снижает компенсаторные возможности у экспериментальных животных.

При анализе влияния нейропротективной и антистрессовой терапии на состояние головного мозга и компенсаторные возможности экспериментальных животных в условиях моделируемой ишемии мозга обнаружено, что применение любого из предложенных

лечебных комплексов (группы 4–6) повышает выживаемость животных по сравнению с контрольной группой. Проведение курса базисной нейропротективной терапии повышает выживаемость экспериментальных животных при хронической ишемии мозга на 31%. Сочетание нейропротективной терапии с антиоксидантом обеспечивает выживаемость 75% животных и 100% — при сочетании со стресс-лимитирующим препаратом.

Три основных показателя поведения крыс: горизонтальная двигательная активность (ГДА), измеряемая количеством пересеченных квадратов в «открытом поле»; вертикальная двигательная активность (ВДА), определяемая количеством подъемов на задние лапы; и условная реакция пассивного избегания (УРПИ) — были проанализированы в динамике (табл. 4, 5).

У всех оперированных животных показатели ВДА и

Таблица 4

Динамика показателей двигательной активности при использовании различных лечебных комплексов

Группы животных	10-е сутки	30-е сутки	60-е сутки
<i>Вертикальная двигательная активность</i>			
Интактные	11,5±1,9 (n=20)	10,0±1,8 (n=20)	10,4±2,2 (n=20)
«Ложнооперированные»	10,80±1,73 (n=20)	7,10±1,62 (n=20)	8,20±1,39 (n=20)
Контрольная группа	3,08±0,97 (n=18)	1,0±0,3* (n=10)	1,0±0,4* (n=8)
Базисная терапия	2,66±0,88 (n=16)	1,67±0,67 (n=12)	4,67±1,67 [#] (n=12)
Базисная и антиоксидантная терапия	2,9±0,9 (n=16)	0,7±0,2** (n=12)	0,7±0,3** (n=12)
Базисная и стресс-лимитирующая терапия	2,6±0,6 (n=16)	1,4±0,7* (n=16)	5,5±4,1 [#] (n=16)
<i>Горизонтальная двигательная активность</i>			
Интактные	106,8±15,7 (n=20)	89,9±10,9 (n=20)	90,2±11,7 (n=20)
«Ложнооперированные»	96,8±18,5 (n=20)	106,7±17,9 (n=20)	104,9±18,0 (n=20)
Контрольная группа	46,3±12,0 (n=18)	20,33±5,70* (n=10)	8,3±8,4* (n=8)
Базисная терапия	59,7±16,4 (n=16)	64,8±7,7 [#] (n=12)	70,1±6,9 [#] (n=12)
Базисная и антиоксидантная терапия	42,5±9,9 (n=16)	20,7±10,3** (n=12)	10,0±5,4** (n=12)
Базисная и стресс-лимитирующая терапия	50,2±9,1 (n=16)	52,5±6,2 [#] (n=16)	55,7±9,8 [#] (n=16)

Примечание: данные представлены в формате М±SD, где М — среднее значение, SD — среднеквадратичное отклонение. Указано количество выживших животных. * — статистически значимая разница значений с показателями на 10-е сутки (p<0,05); # — с контрольной группой (p<0,05); + — с группой, получавшей только базисную терапию (p<0,05).

Таблица 5

Динамика показателей условной реакции пассивного избегания при использовании различных терапевтических комплексов

Группы животных	10-е сутки		30-е сутки		60-е сутки	
	Обучение, с	Воспроизведение, с	Обучение, с	Воспроизведение, с	Обучение, с	Воспроизведение, с
Интактные	21,5±3,1 (n=20)	120,0±1,8 (n=20)	18,5±7,5 (n=20)	179,5±0,5 (n=20)	18,7±9,9 (n=20)	172,0±7,3 (n=20)
«Ложнооперированные»	23,0±2,8 (n=20)	124,0±1,9 (n=20)	25,2±1,4 (n=20)	119,0±2,2 (n=20)	23,1±1,7 (n=20)	122,5±2,1 (n=20)
Контрольная группа	65,7±10,6 [#] (n=18)	108,127,3 (n=18)	66,024,0 [#] (n=10)	101,529,9 [#] (n=10)	56,05,1 [#] (n=8)	106,29,3 [#] (n=8)
Базисная терапия	64,5±10,5 [#] (n=16)	107,0±23,0 (n=16)	46,5±0,5* ^{#v} (n=12)	156,0±1,5* ^{#v} (n=12)	39,3±5,2* ^{#v} (n=12)	141,0±20,8* ^{#v} (n=12)
Базисная и антиоксидантная терапия	57,8±19,5 [#] (n=16)	111,0±12,4 (n=16)	44,6±2,7 [#] (n=12)	146,0±21,5* [#] (n=12)	47,0±21,0 [#] (n=12)	150,0±12,7* ^{#v} (n=12)
Базисная и стресс-лимитирующая терапия	66,0±10,0 [#] (n=16)	109,6±18,5 (n=16)	31,0±7,21 ^{#**v+} (n=16)	180,0±0,01 ^{**v+} (n=16)	32,9±10,5 ^{#v} (n=16)	178,0±0,01 ^{**v} (n=16)

Примечание: данные представлены в формате М±SD, где М — среднее значение, SD — среднеквадратичное отклонение. Указано количество выживших животных. * — статистически значимая разница значений с показателями на 10-е сутки (p<0,05); # — с интактной группой (p<0,05); v — с контрольной группой (p<0,05); + — с группой, получавшей только базисную терапию (p<0,05).

ГДА были резко снижены на 10-е сутки ишемии мозга по сравнению с интактными животными. Показатели ВДА при использовании только базисной нейропротективной терапии повышались по сравнению с контрольной группой к 60-м суткам наблюдения. При включении в терапевтический комплекс антиоксиданта показатели снижались к 30-м суткам и оставались низкими до 60-х суток наблюдения, отличаясь от контрольной группы, а также от группы, получавшей только нейропротективную терапию.

В группе, получавшей стресс-лимитирующий препарат, показатель ВДА снижался к 30-м суткам, однако при последующем наблюдении отмечалось постепенное его повышение. Показатели ГДА в контрольной группе снижались в течение всего периода наблюдения, как и в группе, получавшей базисную в сочетании с антиоксидантной терапией. В группах, получавших только базисную терапию и базисную в сочетании со стресс-лимитирующей терапией, снижения ГДА не отмечено.

Таким образом, повышение ВДА и стабилизация ГДА к 60-м суткам при экспериментальной ишемии мозга наблюдались в случаях применения базисной терапии и базисной в сочетании со стресс-лимитирующей терапией.

Оценку обучаемости и памяти при использовании различных терапевтических комплексов проводили с помощью исследования УРПИ (см. табл. 5). Установлено, что у животных контрольной группы способность к обучению в отдаленном периоде ишемии мозга не восстанавливалась. При использовании только базисной терапии отмечали улучшение способности к обучению, однако показатели УРПИ оставались ниже, чем в группе интактных животных. Подобная динамика выявлена и в группе, получавшей базисную и антиоксидантную терапию. В группе, получавшей базисную и стресс-лимитирующую терапию, отмечено восстановление способности к обучению: к 30-м суткам время пребывания в светлом отсеке (показатель «воспроизведение») достигло уровня интактных животных и сохранялось до 60 сут. Время обучения уменьшалось, хотя и не достигало уровня интактных животных.

Таблица 6

Динамика электрофоретической подвижности эритроцитов при использовании различных терапевтических комплексов, мкм·см В⁻¹с⁻¹

Группы животных	10-е сутки	60-е сутки
Интактные крысы	1,31±0,02 (n=20)	1,32±0,02 (n=20)
«Ложнооперированные» крысы	1,32±0,02 (n=20)	1,31±0,03 (n=20)
Контрольная группа	1,46±0,07 (n=18)	1,63±0,03* (n=8)
Базисная терапия	1,50±0,05 (n=16)	1,47±0,03** (n=12)
Базисная и антиоксидантная терапия	1,51±0,03 (n=16)	1,67±0,02* (n=12)
Базисная и стресс-лимитирующая терапия	1,44±0,08 (n=16)	1,35±0,03**# (n=16)

Примечание: указано количество выживших животных; * — статистически значимая разница значений с показателями на 10-е сутки (p<0,05); # — с контрольной группой (p<0,05); + — с группой, получавшей только базисную терапию (p<0,05).

Для оценки состояния неспецифической стрессовой системы при использовании различных терапевтических комплексов проводили исследование электрофоретической подвижности эритроцитов (ЭФПЭ) и лейкоцитарной формулы у крыс. В группе контроля ЭФПЭ (табл. 6) сохраняла повышенные значения с 10-х по 60-е сутки наблюдения. Аналогичная ситуация наблюдалась при включении в терапевтический комплекс антиоксиданта. В группе животных, получавших только базисную терапию, а также в группе, получавшей базисную и стресс-лимитирующую терапию, к 60-м суткам отмечено статистически значимое снижение ЭФПЭ, указывающее на приближение показателей стрессовых реакций к физиологическому уровню. Динамика была более выраженной в группе животных, получавших стресс-лимитирующую терапию.

Динамика лейкоцитарной формулы в группах, получавших антиоксидантную и стресс-лимитирующую терапию, была однонаправленной: пониженный уровень лимфоцитов крови на 10-е сутки повышался к 60-м суткам до уровня у интактных животных. В группе, не получавшей лечения, уровень лимфоцитов к 60-м суткам не достигал нормальных значений. Динамика лейкоцитарного коэффициента, отличная от контрольной группы, отмечена у всех животных, получавших лечение. Снижение лейкоцитарного коэффициента свидетельствует об уменьшении стрессовой реакции в этих группах.

Исследование окислительных процессов заключалось в определении соотношения лактата и пирувата в артериальной крови животных и антиоксидантной активности плазмы крови. Способность субстратов крови тормозить окислительные процессы характеризовалась отношением I_{max}/S. Динамика показателей окислительных процессов при использовании различных терапевтических комплексов представлена в табл. 7.

Преобладание анаэробных процессов со снижением утилизации пирувата в цикле Кребса в отдаленном периоде ишемии мозга отмечалось у всех экспериментальных животных по сравнению с интактными. В группе, получавшей базисную терапию, и в группе, получавшей базисную и стресс-лимитирующую терапию, не выявлено повышения соотношения лактата и пирувата в 60-е сутки по сравнению с 10-ми сутками. Более того, в группе, получавшей препарат стресс-лимитирующего действия, отмечалось снижение этого показателя к 60-м суткам.

На 10-е сутки антиоксидантная активность плазмы крови (I_{max}/S) была ниже у животных с ишемией мозга по сравнению с интактными. К 60-м суткам этот показатель в контрольной группе оставался низким. Напротив, во всех группах, получавших лечение, отмечено повышение антиоксидантной активности к 60-м суткам по сравнению с 10-ми сутками и с контрольной группой.

Таблица 7

Динамика показателей окислительных процессов при использовании различных терапевтических комплексов

Группы животных	Лактат/пируват		I _{max} /S	
	на 10-е сутки	на 60-е сутки	на 10-е сутки	на 60-е сутки
Интактные	3,70±1,03	5,84±0,30	0,101±0,003	0,095±0,003
«Ложнооперированные»	3,20±1,01	5,85±0,21	0,094±0,003	0,096±0,004
Контрольная группа	16,60±2,62 ^v	24,79±2,62 ^v	0,059±0,002 ^v	0,066±0,004 ^v
Базисная терапия	16,90±1,09 ^v	20,48±8,07 ^v	0,062±0,002 ^v	0,089±0,003* [#]
Базисная и антиоксидантная терапия	16,20±2,03 ^v	30,68±5,24* ^v	0,060±0,003	0,076±0,004* [#]
Базисная и стресс-лимитирующая терапия	17,0±1,15	11,41±2,28* ^{#v}	0,058±0,005	0,085±0,002* [#]

Примечание: данные представлены в формате M±SD, где M — среднее значение, SD — среднеквадратичное отклонение. * — статистически значимая разница значений с показателями на 10-е сутки (p<0,05); # — с контрольной группой (p<0,05); v — с интактными животными (p<0,05).

Результаты исследования двигательной коры в отдаленном периоде ишемии мозга представлены в табл. 3. У экспериментальных животных во всех группах, кроме крыс, получавших стресс-лимитирующую терапию, отмечено уменьшение количества нейронов и увеличение количества клеток нейроглии по сравнению с интактными животными. Увеличение количества клеток нейроглии было более выраженным в контрольной группе. Таким образом, применение антистрессовой терапии активизирует нейротрофические процессы в нервной ткани и улучшает показатели жизнеспособности нейронов и клеток нейроглии.

Заключение. При моделировании хронической ишемии головного мозга у экспериментальных животных, по всей вероятности, сохраняется дисбаланс в соотношении стресс-активирующих и стресс-лимитирующих систем в течение всего периода (до 60 сут) наблюдения, что проявляется изменением лабораторных показателей и приводит к недостаточности адаптационно-компенсаторных процессов у животных в условиях хронической ишемии мозга, снижению их выживаемости к 60-м суткам постишемического периода почти в 2 раза.

Проведение курса базисной нейропротективной терапии повышает выживаемость экспериментальных животных в отдаленном периоде хронической ишемии мозга на 31% и оказывает нейротрофическое действие. Сочетание базисной нейропротективной терапии с препаратами антистрессового действия обеспечивает выживаемость 75% животных при использовании антиоксиданта и 100% — в случае применения стресс-лимитирующего препарата. Включение стресс-лимитирующего препарата в терапевтический комплекс усиливает нейротрофический эффект.

Финансирование исследования и конфликт интересов. Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

Литература

1. Кухтевич В.В. «Отступные» организма от более тяжелых болезней, компенсаторно-приспособительные реак-

ции при хронических болезнях. Медицинская кафедра 2002; 3: 108–114.

2. Мартюшев-Поклад А.В., Воронина Т.А. Стресс-лимитирующие системы и нейрональная пластичность в патогенезе психических и неврологических расстройств. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии 2003; 2(4): 15–25.

3. Нарыжная Н.В. Антиаритмические эффекты адаптации к гипоксии и стрессу реализуются через различные типы опиоидных рецепторов. Патогенез 2008; 3: 78.

4. Arkhipenko Yu.V. Adaptation to changing level of O₂ increase myocardial membrane resistance to reactive oxygen species. In: International society for adaptive medicine (ISAM): abstracts of VIII World Congress. Moscow; 2006; p. 41.

5. Rattan S.I.S. Anti-aging and life-prolonging hormetic effects of mild stress. In: International society for adaptive medicine (ISAM): abstracts of VIII World Congress. Moscow; 2006; p. 63.

6. Агаджанян Н.А. Адаптационная и этническая физиология: экология и здоровье человека. В кн.: Эколого-физиологические проблемы адаптации: материалы XIV Международного симпозиума. М: Изд-во РУДН; 2009; с. 3–7.

7. Burton T., Farley D., Rhea A. Stress-induced somatization in spouses of deployed and nondeployed servicemen. J Am Acad Nurse Pract 2009; 21(6): 332–339, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-7599.2009.00411.x>.

8. Carson A.J., Ringbauer B., MacKenzie L. Neurological disease, emotional disorder, and disability: they are related: a study of 300 consecutive new referrals to a neurology outpatient department. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2000; 68: 202–206, <http://dx.doi.org/10.1136/jnnp.68.2.202>.

9. Medin J., Ekberg K., Nordlund A., Eklund J. Organisational change, job strain and increased risk of stroke. A pilot study. Work 2008; 31(4): 443–449.

10. Гипоксия. Адаптация, патогенез, клиника. Под ред. Шевченко Ю.Л. СПб: Элби-СПб; 2000; 384 с.

11. Функционально-метаболические особенности животных с различной индивидуальной резистентностью к гипоксии. Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты. Под ред. Лукьяновой Л.Д., Ушакова И.Б. М–Воронеж: Изд-во «Истоки»; 2004; с. 156–159.

12. Максимова М.Ю., Домашенко М.А., Танашян М.М. Современные подходы к профилактике и лечению хрони-

ческих нарушений мозгового кровообращения. *Неврология, нейропсихиатрия и психосоматика* 2012; 4: 88–91.

13. Румянцова С.А., Сирина Е.В. Энергокоррекция и качество жизни при хронической ишемии мозга. М: Медицинская книга; 2007.

14. Суслина З.А., Федин А.И., Румянцова С.А. и др. Клиническая эффективность цитофлавина при дисциркуляторной энцефалопатии — хронической ишемии мозга (результаты многоцентрового рандомизированного исследования). *Вестник СПбГМА им. И.И. Мечникова* 2005; 3(6): 7–14.

15. Gannushkina I.V., Konorova I.L., Koplík E.V., Antelava A.L. Correction of cerebral ischemia in low-resistant animals with an antistress drug Deltaran. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2006; 141(3): 288–291, <http://dx.doi.org/10.1007/s10517-006-0152-x>.

16. Konorova I.L., Gannushkina I.V., Koplík E.V., Antelava A.L. Deltaran prevents an adverse effect of emotional stress on the course of cerebral ischemia in low-resistant animals. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2006; 141(5): 564–566, <http://dx.doi.org/10.1007/s10517-006-0221-1>.

17. Судаков К.В. Итоги и перспективы развития теории функциональных систем. *Вестник РАМН* 2009; 8: 3–11.

18. Sudakov K.V., Umriukhin P.E., Rayevsky K.S. Delta-sleep inducing peptide and neuronal activity after glutamate microiontophoresis: the role of NMDA-receptors. *Pathophysiology* 2004; 11(2): 81–86, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pathophys.2004.03.003>.

19. Гусев Е.И., Никифоров А.С., Гехт А.Б. Лекарственные средства в неврологической клинике. М: МЕДпресс-информ; 2003.

References

1. Kukhtevich V.V. Compensatory-adaptive reactions of the organism in chronic illnesses save it from more severe diseases. *Meditsinskaya kafedra* 2002; 3: 108–114.

2. Martyushev-Poklad A.V., Voronina T.A. Stress-limiting systems and neuronal plasticity in pathogenesis of psychic and neurologic disorders. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii* 2003; 2(4): 15–25.

3. Naryzhnaya N.V. Antiarrhythmic effects of adaptation to hypoxia and stress are realized via various types of opioid receptors. *Patogenez* 2008; 3: 78.

4. Arkhipenko Yu.V. Adaptation to changing level of O₂ increase myocardial membrane resistance to reactive oxygen species. In: *International society for adaptive medicine (ISAM): abstracts of VIII World Congress*. Moscow; 2006; p. 41.

5. Rattan S.I.S. Anti-aging and life-prolonging hormetic effects of mild stress. In: *International society for adaptive medicine (ISAM): abstracts of VIII World Congress*. Moscow; 2006; p. 63.

6. Agadzhanyan N.A. Adaptatsionnaya i etnicheskaya fiziologiya: ekologiya i zdorov'e cheloveka. V kn.: *Ekologo-fiziologicheskie problemy adaptatsii: materialy XIV Mezhdunarodnogo simpoziuma* [Adaptive and ethnic physiology: ecology and human health. In: Ecologic and physiologic problems of adaptation: proceedings of XIV International Symposium]. Moscow: Izd-vo RUDN; 2009; p. 3–7.

7. Burton T., Farley D., Rhea A. Stress-induced somatization in spouses of deployed and nondeployed servicemen. *J Am Acad Nurse Pract* 2009; 21(6): 332–339, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-7599.2009.00411.x>.

8. Carson A.J., Ringbauer B., MacKenzie L. Neurological disease, emotional disorder, and disability: they are related: a study of 300 consecutive new referrals to a neurology outpatient department. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000; 68: 202–206, <http://dx.doi.org/10.1136/jnnp.68.2.202>.

9. Medin J., Ekberg K., Nordlund A., Eklund J. Organisational change, job strain and increased risk of stroke. A pilot study. *Work* 2008; 31(4): 443–449.

10. Gipoksiya. *Adaptatsiya, patogenez, klinika* [Hypoxia. Adaptation, pathogenesis, clinical picture]. Pod red. Shevchenko Yu.L. [Shevchenko Yu.L. (editor)]. Saint Petersburg: Elbi-SPb; 2000; 384 p.

11. *Funksional'no-metabolicheskie osobennosti zhivotnykh s razlichnoy individual'noy rezistentnost'yu k gipoksii. Problemy gipoksii: molekulyarnye, fiziologicheskie i meditsinskie aspekty* [Functional and metabolic characteristics of animals with various individual resistance to hypoxia. Problems of hypoxia: molecular, physiological and medical aspects]. Pod red. Luk'yanovoy L.D., Ushakova I.B. [Luk'yanova L.D., Ushakov I.B. (editors)]. Moscow–Voronezh: Izd-vo "Istoki"; 2004; p. 156–159.

12. Maksimova M.Y., Domashenko M.A., Tanashyan M.M. Current approaches to preventing and treating chronic cerebral circulatory disorder. *Nevrologiya, neyropsikhiatriya i psikhosomatika* 2012; 4: 88–91.

13. Rumyantseva S.A., Silina E.V. *Energokorreksiya i kachestvo zhizni pri khronicheskoy ishemii mozga* [Energy correction and quality of life in chronic cerebral ischemia]. Moscow: Meditsinskaya kniga; 2007.

14. Suslina Z.A., Fedin A.I., Rumyantseva S.A., et al. Clinical efficacy of cytoflavin in discirculatory encephalopathy — chronic cerebral ischemia (results of multicenter randomized study). *Vestnik Sankt-Peterburgskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii im. I.I. Mechnikova* 2005; 3(6): 7–14.

15. Gannushkina I.V., Konorova I.L., Koplík E.V., Antelava A.L. Correction of cerebral ischemia in low-resistant animals with an antistress drug Deltaran. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2006; 141(3): 288–291, <http://dx.doi.org/10.1007/s10517-006-0152-x>.

16. Konorova I.L., Gannushkina I.V., Koplík E.V., Antelava A.L. Deltaran prevents an adverse effect of emotional stress on the course of cerebral ischemia in low-resistant animals. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2006; 141(5): 564–566, <http://dx.doi.org/10.1007/s10517-006-0221-1>.

17. Sudakov K.V. Results and prospects of the development of the theory of functional systems. *Vestnik Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk* 2009; 8: 3–11.

18. Sudakov K.V., Umriukhin P.E., Rayevsky K.S. Delta-sleep inducing peptide and neuronal activity after glutamate microiontophoresis: the role of NMDA-receptors. *Pathophysiology* 2004; 11(2): 81–86, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pathophys.2004.03.003>.

19. Gusev E.I., Nikiforov A.S., Gekht A.B. *Lekarstvennye sredstva v neurologicheskoy klinike* [Medicaments in neurological clinics]. Moscow: MEDpress-inform; 2003.