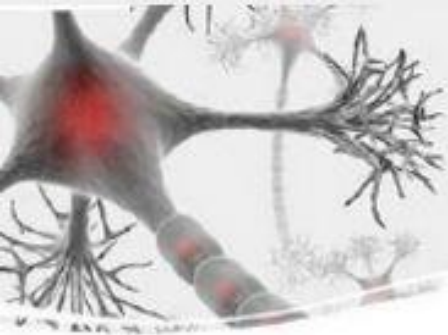




СПХФА

с 1919 года на службе
науке и здоровью нации



**Санкт-Петербургская
государственная химико-
фармацевтическая академия**



**КАФЕДРА ФАРМАКОЛОГИИ
И КЛИНИЧЕСКОЙ ФАРМАКОЛОГИИ**

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия

ВЛИЯНИЕ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ДИЭТИЛАМИНОЭТАНОЛА НА ВЫРАЖЕННОСТЬ НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО ДЕФИЦИТА У КРЫС ПОСЛЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

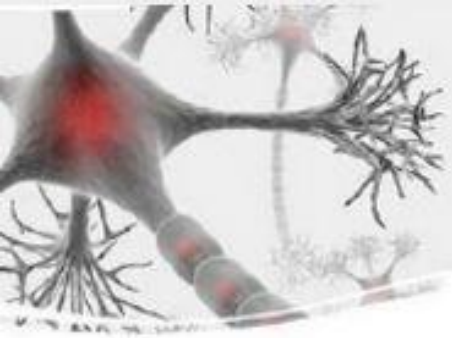
Дипломник: Узуегбунам Брайт, 5 курс ФФ

Руководитель: ассистент Сысоев Ю.И.

Зав. кафедрой фармакологии и клинической фармакологии:

д.м.н., профессор Оковитый С.В

СПБ 2017



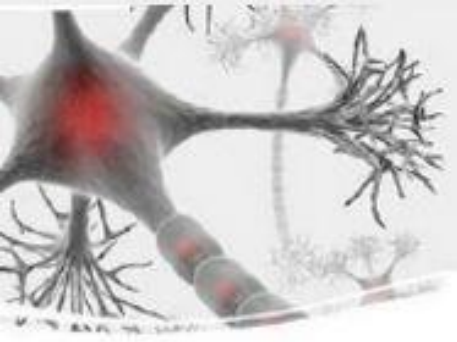
Актуальность темы

Проблема диагностики и эффективного лечения **черепно-мозговой травмы (ЧМТ)** является одной из важнейших в современной науке.

В последние десятилетия наблюдают увеличение распространение ЧМТ в связи с повышением темпа жизни человечества.

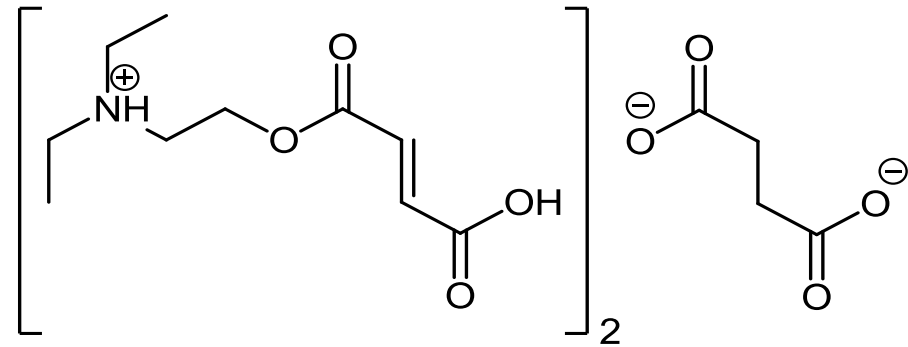
Имеющиеся на фармацевтическом рынке **нейропротекторные средства** показывают низкую эффективность в исследованиях на людях[1].

Также, к сожалению, на сегодняшний момент **не существует** экспериментальной модели травмы мозга, с точностью копирующей реальную клиническую ситуацию.



Цель исследования

1. Изучить влияние (2E)-4-[2-(диэтиламино)этокси]-4-оксобут-2-еновой кислоты бутандиоата (2:1) на выраженность неврологического дефицита у крыс на модели черепно-мозговой травмы (ЧМТ).

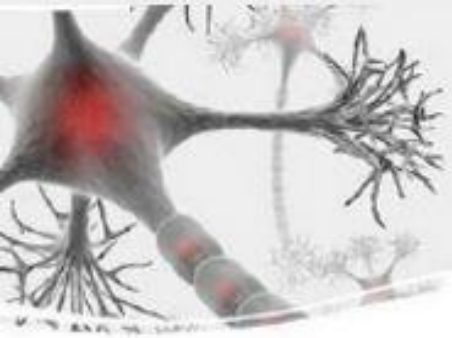


2. Определить роль холинергических систем в нейропротекторном действии изучаемого лекарственного средства.



Задачи исследования

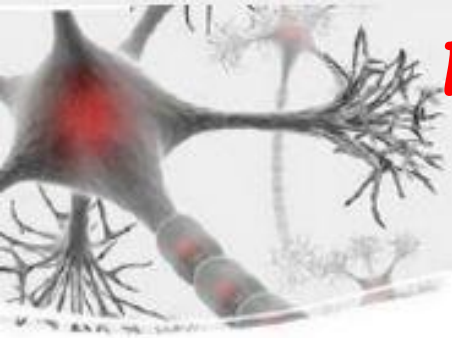
- Моделирование черепно-мозговой травмы у крыс методом контролируемого кортикального ушиба (Controlled Cortical Impact Injury, CCI).
- Оценка степени неврологического дефицита у животных разных экспериментальных групп в тестах:
 - «Стимулирование конечностей»
 - «Открытое поле»
 - «Приподнятый Крестообразный Лабиринт»
 - «Цилиндр»
 - «Сужающаяся дорожка»



Материалы и методы

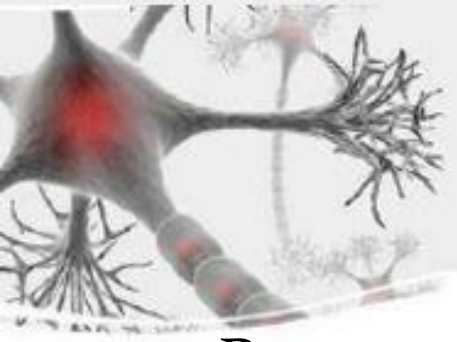
Исследования выполнены на **105 белых беспородных крысах** самцах весом 250-300 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская область).

- **Интактные животные** – 15 крыс
- **По 20 крыс в группах:** контрольная группа, ФДЭС, 75 мг/кг; ФДЭС, 10 мг/кг;
- **По 10 крыс в группах:** Холина альфосцерата; Цитиколина; ФДЭС, 10 мг/кг+ Скополамина.



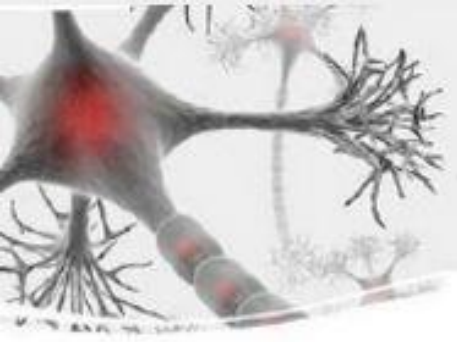
Почему мы выбрали эти вещества в качестве референтных ?

Одной из групп нейропротекторных и ноотропных средств, представляющих большой интерес в качестве базисных средств фармакотерапии у больных с черепно-мозговой травмой, являются производные аминоэтанола. К ним относятся деанола ацеглумат, холина альфосцерат, а также цитиколин. Поэтому поиск и разработка новых лекарственных препаратов на основе диэтиламиноэтанола является перспективным



Цитиколин

В экспериментах цитиколин улучшал когнитивные функции у травмированных животных по сравнению с контрольной группой, а также повышал внеклеточный **уровень ацетилхолина в гиппокампе и коре intactных животных [2]**. Также, цитиколин снижал выраженность нарушений работы гематоэнцефалического барьера и уменьшал отек мозга у крыс [3]. Применение цитиколина незамедлительно после травмы предотвращало гибель нейронов гиппокампа, снижало объем контузии коры и ускоряло функциональное восстановление у крыс [4].



Холина альфосцерат

В экспериментальных исследованиях ишемии головного мозга под влиянием холина альфосцерата замедлялись процессы перекисного окисления липидов, также снижалась скорость апоптоза.

Усиление метаболических процессов в головном мозге под влиянием холина альфосцерата и активация ретикулярной формации обеспечивает клинические эффекты в виде положительного влияния на *познавательные, психические и поведенческие функции*[5-10].

Менделевич Е.Г et al [5], Соловьева А.В et al[6], Ю.А. Старчина et al[7], Lopez C.M. et al[8], Fallbrook A et al[9], Khaselev N et al[10]

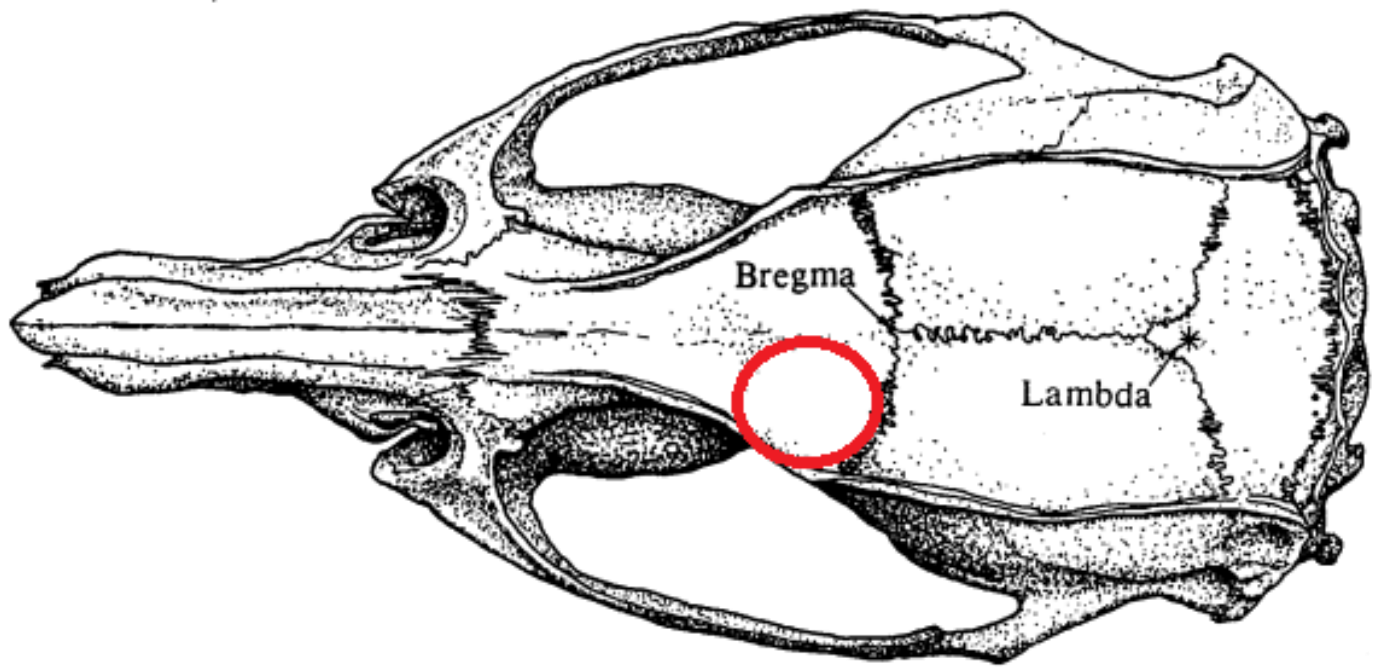
Модели ЧМТ

- Жидкостно-перкуSSIONное повреждение (fluid-percussion brain injury “FLP”).
- Модель «ЧМТ с использованием падающего груза» (weight drop method).
- Модель «контролируемого кортикального ушиба» (**Controlled Cortical Impact Model**).



Материалы и методы

Моделирование черепно-мозговой травмы у крыс проводили методом контролируемого кортикального повреждения путем нанесения удара по определенному участку сенсомоторной коры.

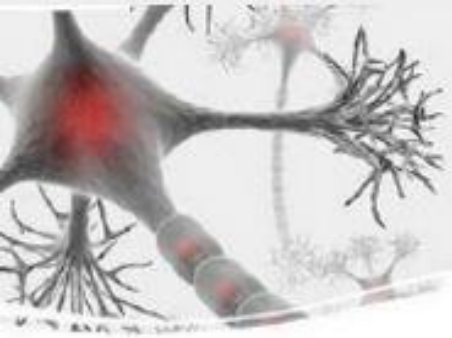




Для создания травмы животных наркотизировали внутрибрюшинным введением раствора **хлоралгидрата** (400 мг/кг), после чего проводили трепанацию черепа в левой лобной части над зоной сенсомоторной коры.

После этого в трепанационное отверстие помещали **подвижный стальной поршень** диаметром 3 мм с ходом 4 мм, по которому с высоты 10 см ударял скользящий в железной трубке груз весом 50 г.

Высверленную пластину возвращали на место, зашивали разрез кожи



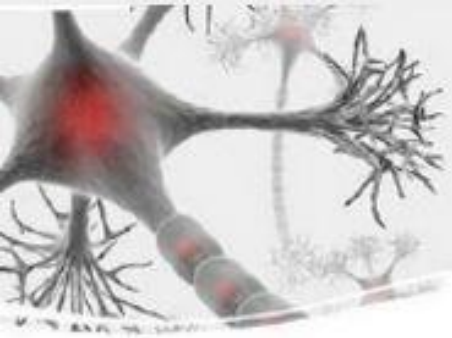
Стимулирование конечностей

Тест заключается в ответе задних и передних конечностей на тактильную и проприоцептивную стимуляцию.

Для оценки нарушений в работе конечностей использовали следующую систему подсчета:

- **2 балла** – крыса полностью выполняла испытание;
- **1 балл** – крыса выполняла испытание с задержкой в более чем 2 сек и/или не полностью;
- **0 баллов** – крыса не отвечала на стимулирование конечности.

Максимально возможное суммарное количество баллов было равно 14, тестирование выполняли на 1-е, 3-и и 7-е сутки после ЧМТ



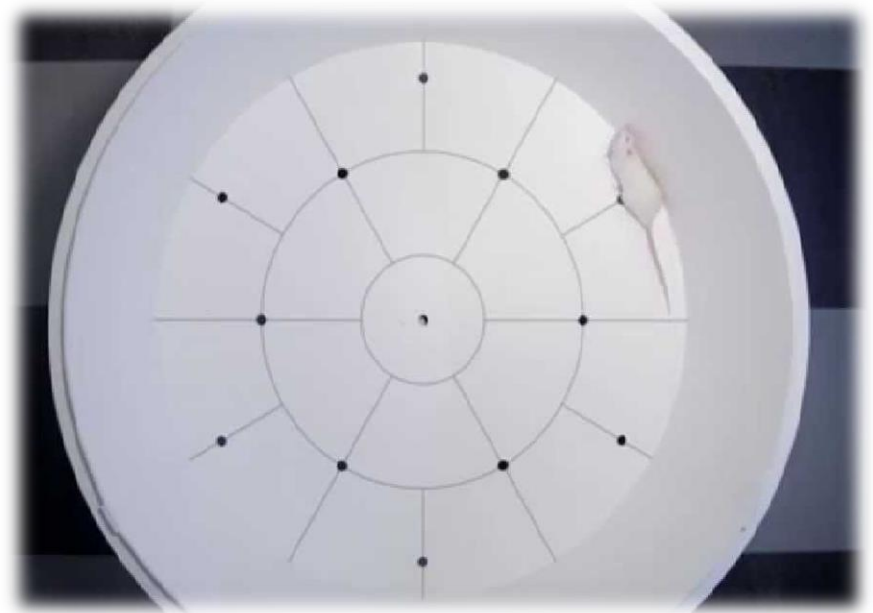
«ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ»

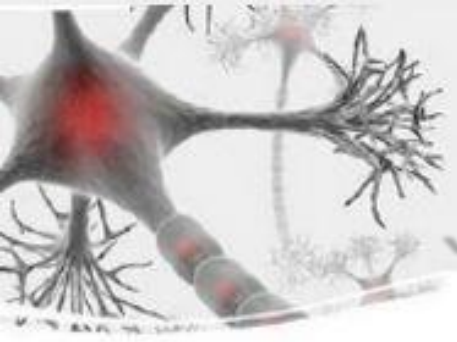
В данном тесте животные тестировались на 3-е сутки после травмы.

Подсчитывалось количество пересеченных квадратов, стоек, грумингов и заглядываний в норки.

Оценивали общую двигательную активность (ОДА), складывающуюся из горизонтальных и вертикальных перемещений, грумингов и заглядываний в норки

Поисково-исследовательскую активность (ПИА) определяли как сумму вертикальных перемещений и заглядываний





«Приподнятый крестообразный лабиринт»

На 7-е сутки после операции у животных оценивали время нахождения в открытых и закрытых рукавах, а также подсчитывали:

Переходы в открытый/закрытый рукав

Стойки

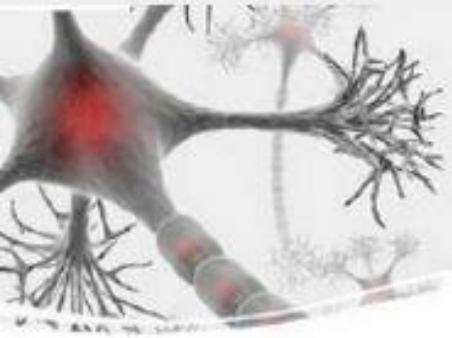
Выглядывания из закрытых рукавов

Свисания

Груминг

Рассчитывали, как и в тесте «Открытое поле» показатель «общая двигательная активность», складывая между собой все подсчитываемые показатели



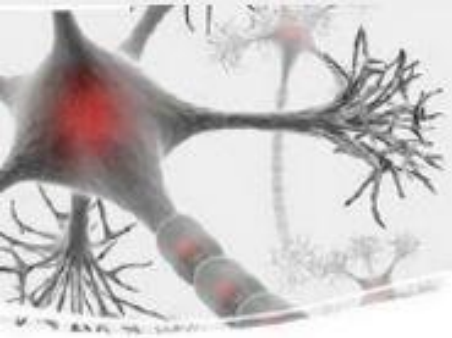


ТЕСТ «ЦИЛИНДР»

В тесте "Цилиндр" оценивается асимметрия использования животным передних конечностей в течение спонтанного исследования стенок цилиндра

На 7-е сутки после травмы, подсчитывали количество независимого использования крысами поврежденной и неповрежденной передних конечностей во время исследования стенки цилиндра после подъема на задние лапы, а также одновременное (совместное) использование обеих лап.





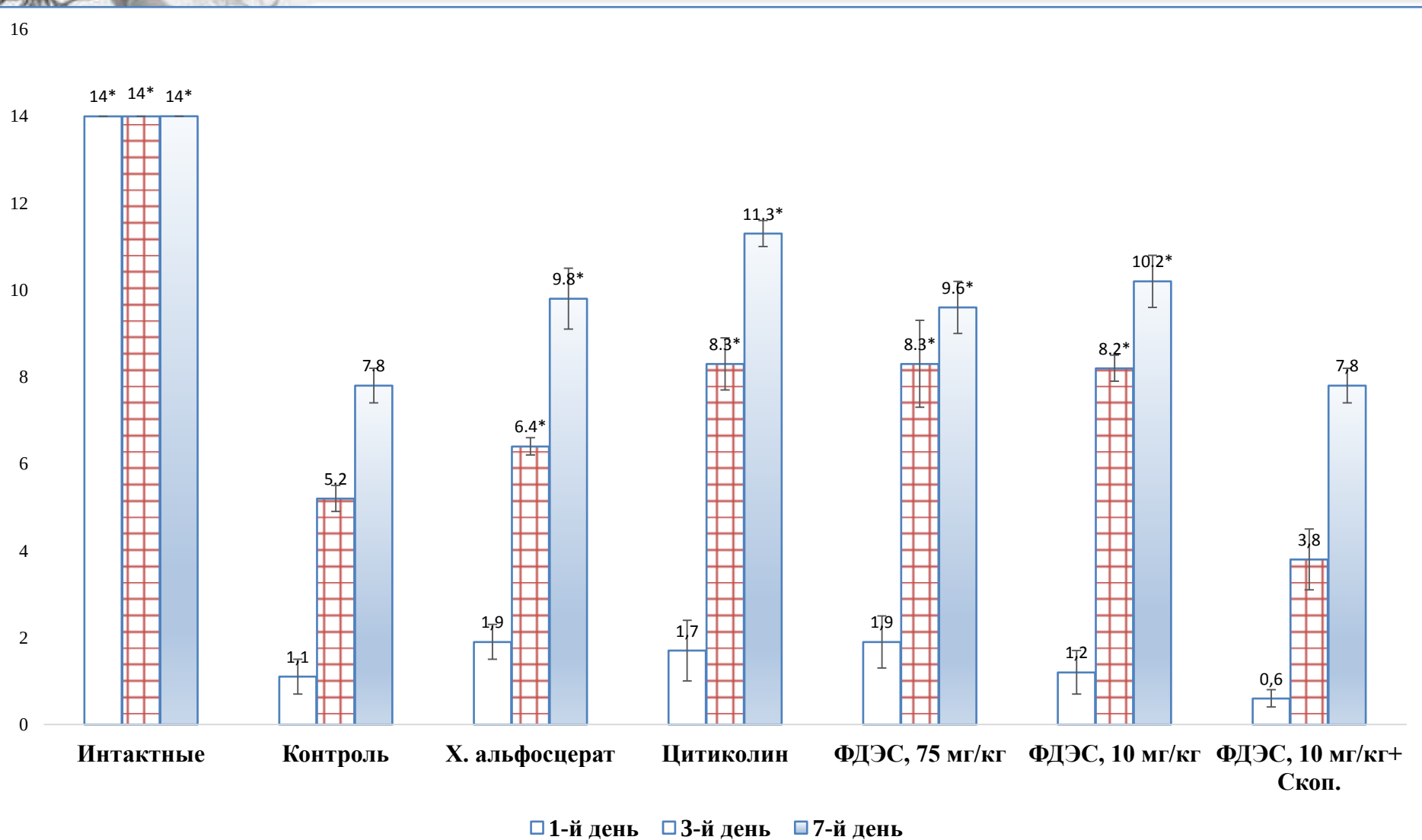
«СУЖАЮЩАЯСЯ ДОРОЖКА»

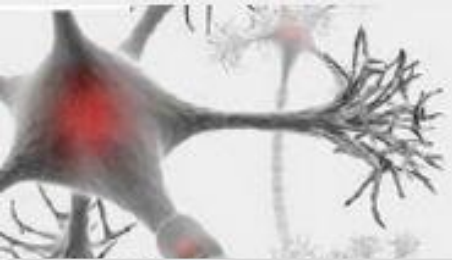
Установка "Сужающаяся дорожка" предназначена для оценки моторного дефицита главным образом **задних конечностей** и в меньшей степени передних, при моделировании различных патологических состояний мозга, связанных с повреждением моторной коры.

Животных тестировали на **7 день** после травмы.

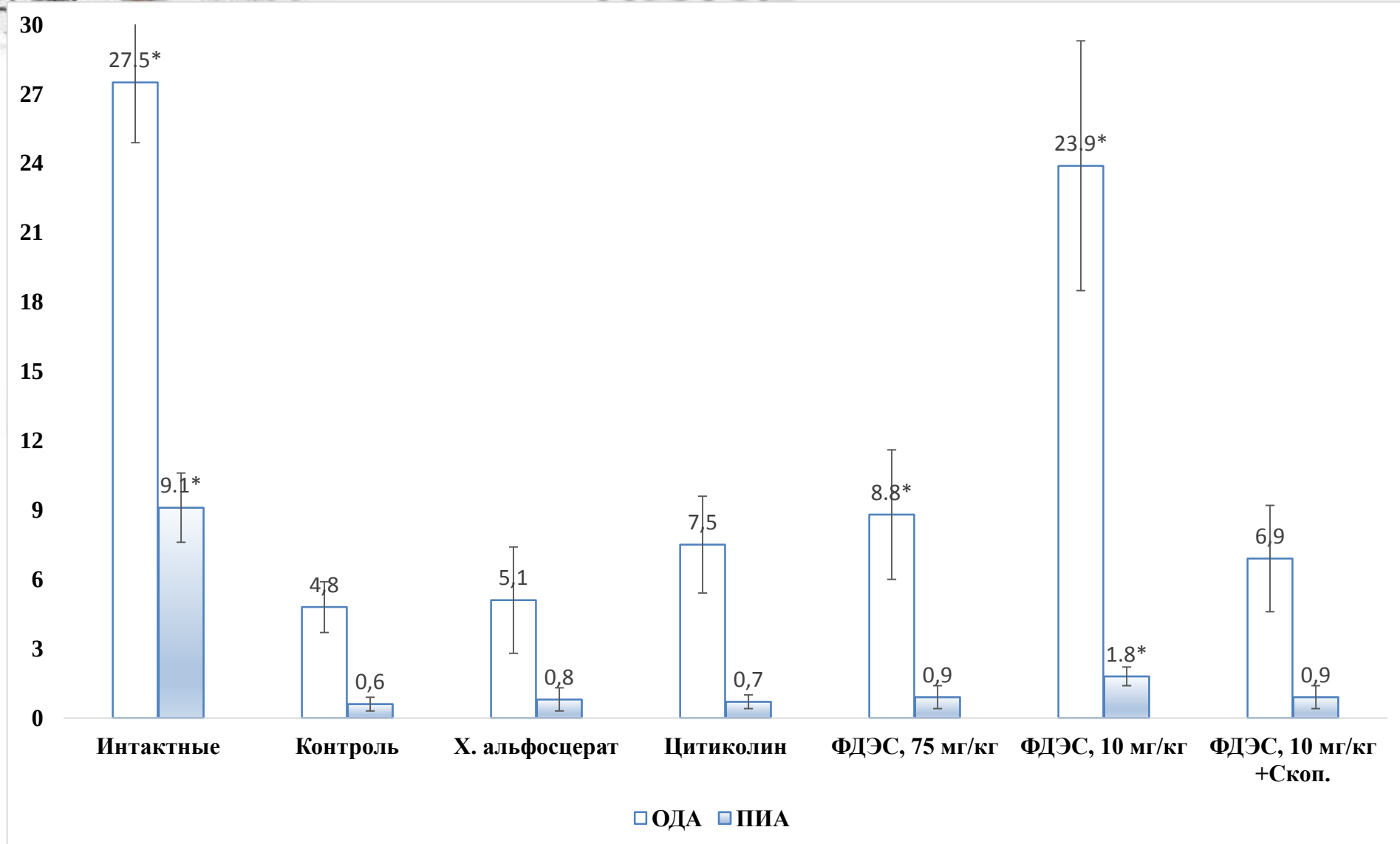


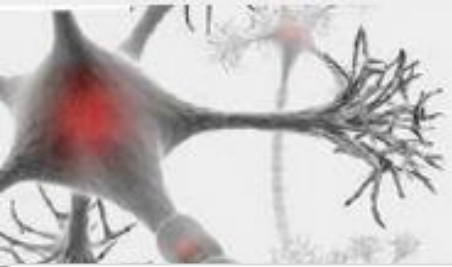
РЕЗУЛЬТАТЫ: СТИМУЛИРОВАНИЕ КОНЕЧНОСТЕЙ





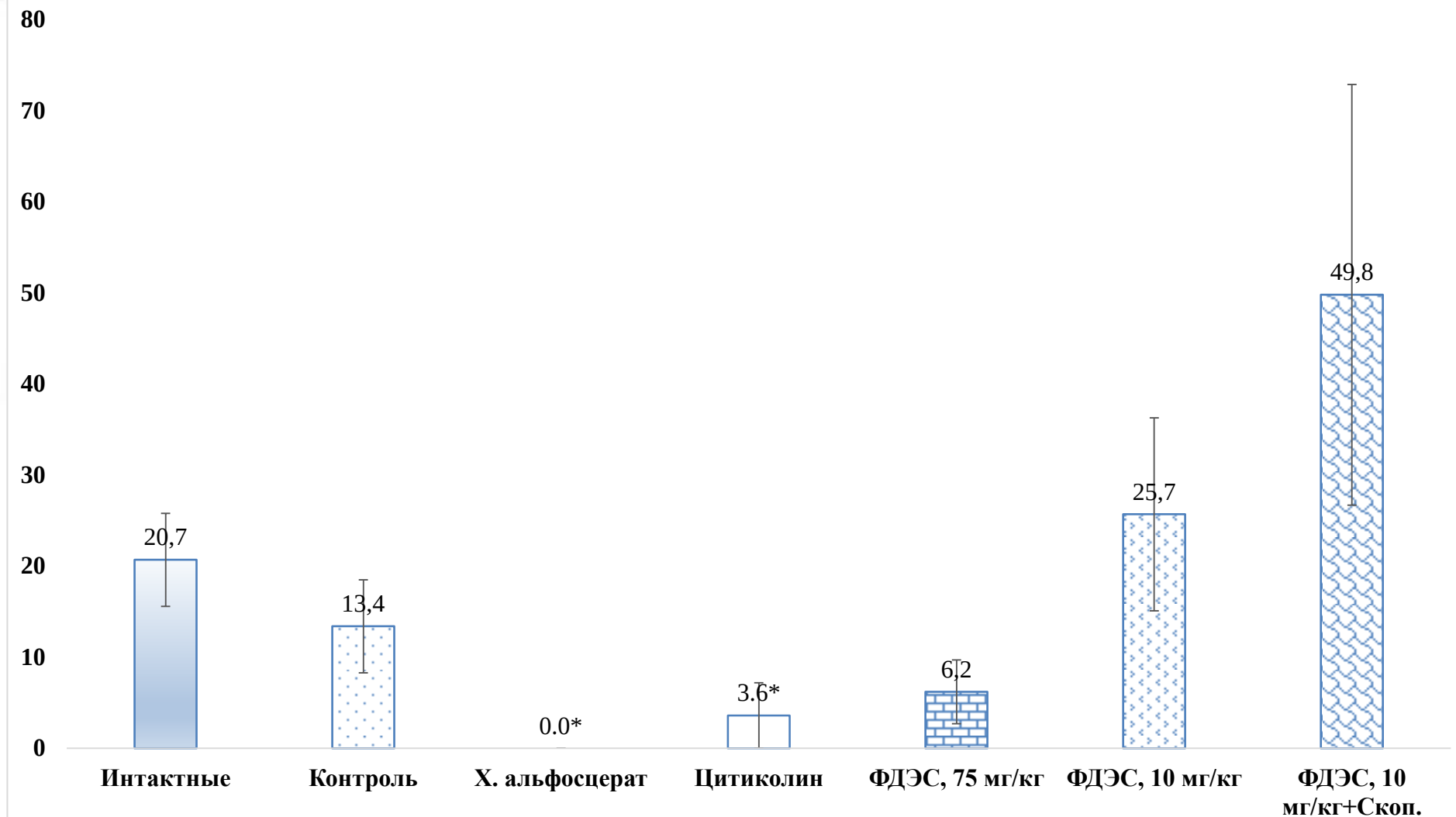
РЕЗУЛЬТАТЫ: ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ

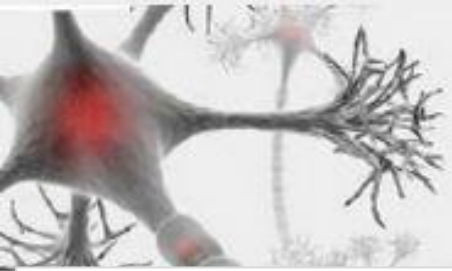




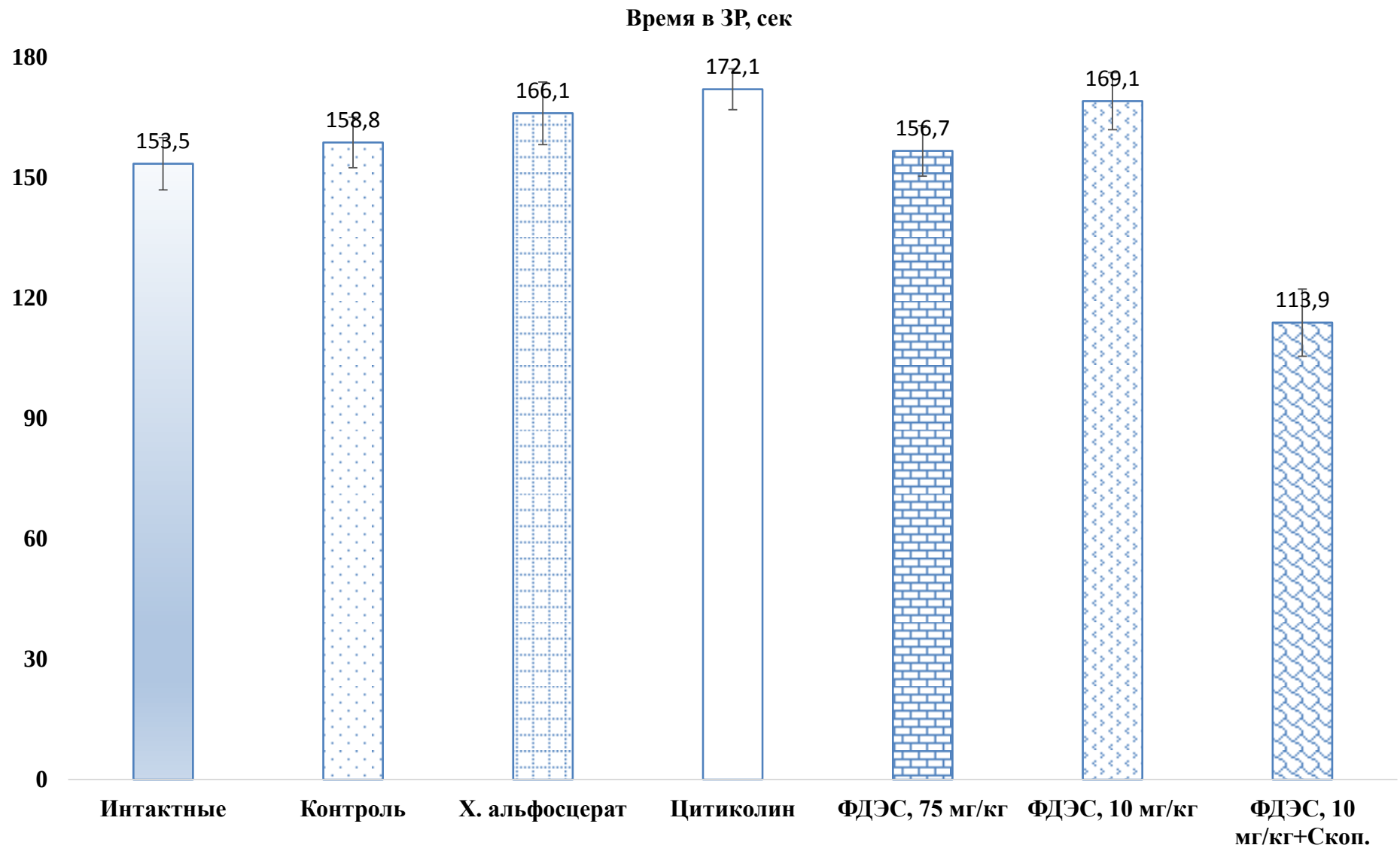
РЕЗУЛЬТАТЫ: ПКЛ

Время в ОР, сек



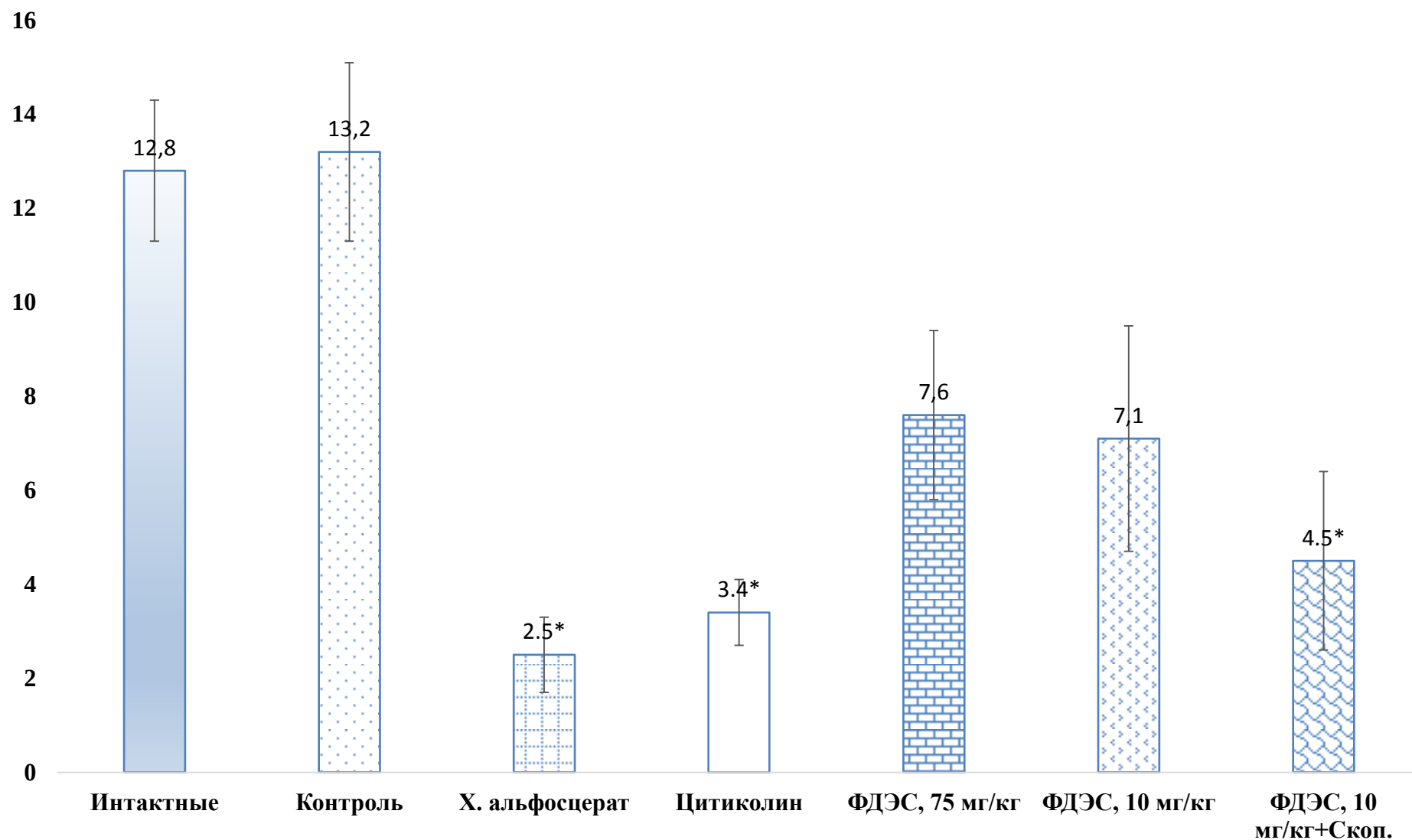


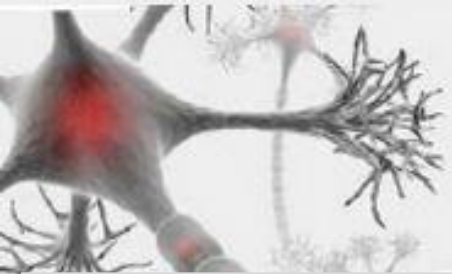
РЕЗУЛЬТАТЫ: ПКЛ



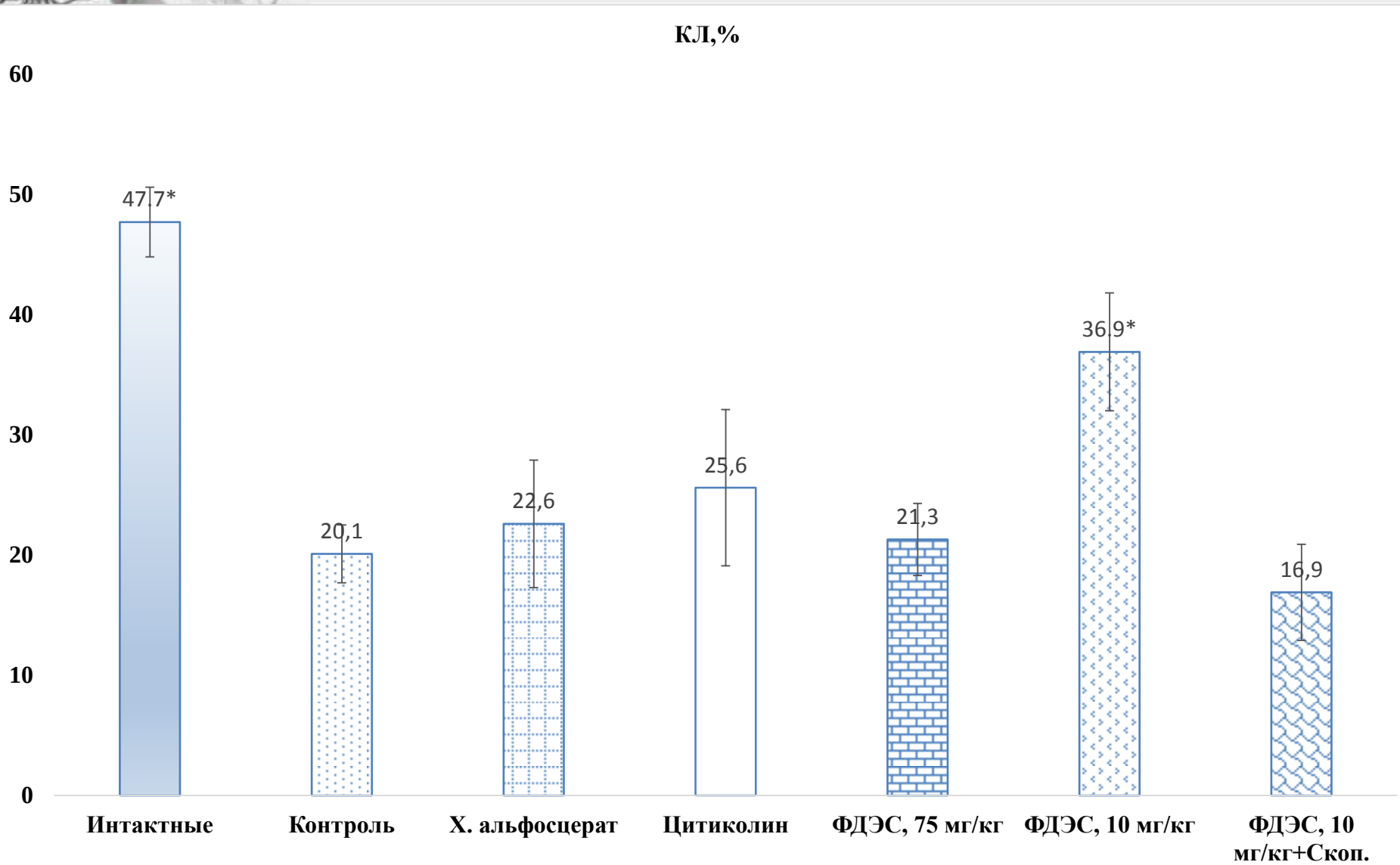
РЕЗУЛЬТАТЫ: ПКЛ

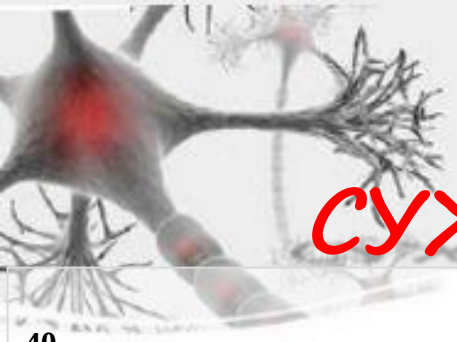
ОДА



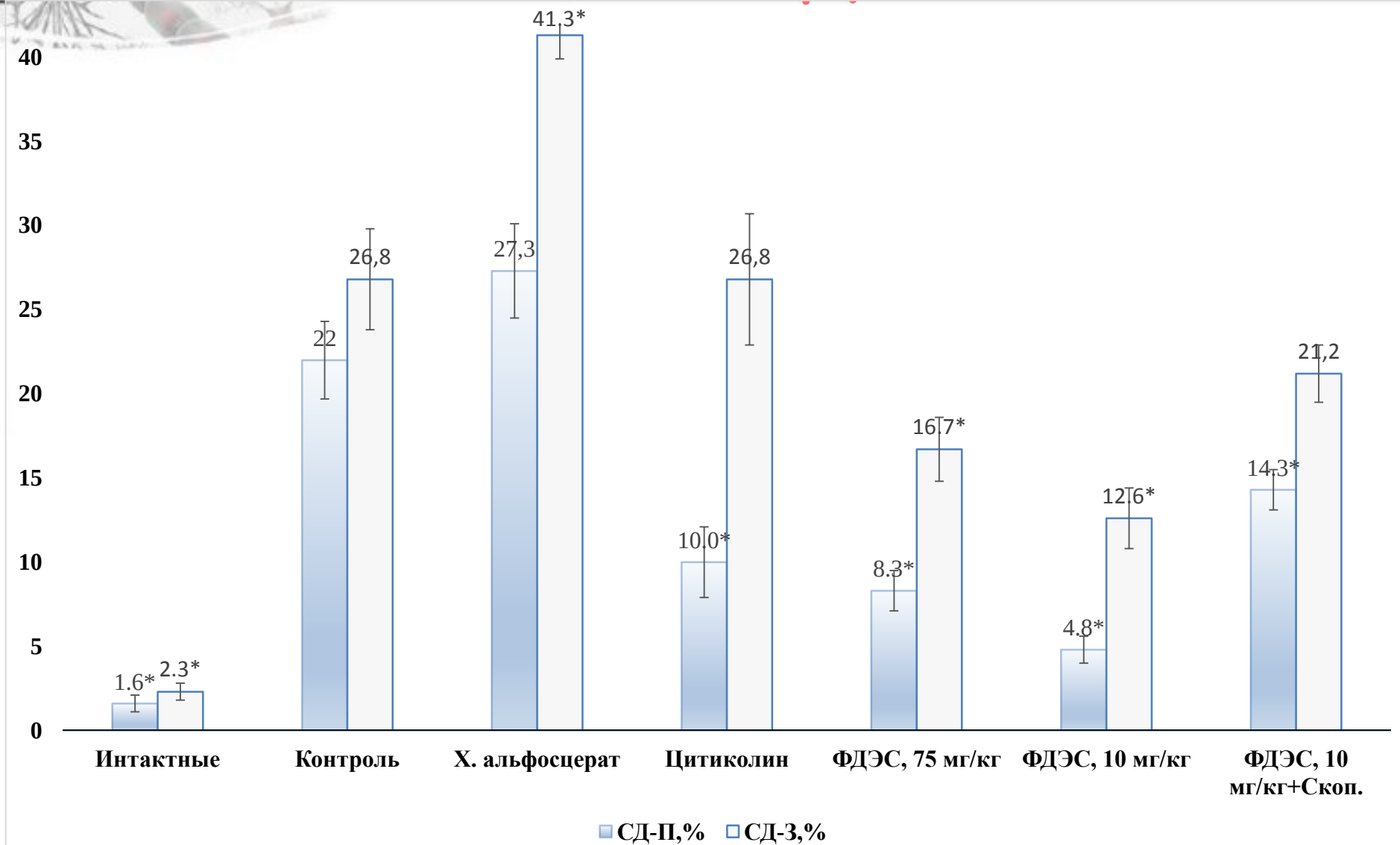


РЕЗУЛЬТАТЫ: ЦИЛИНДР





РЕЗУЛЬТАТЫ: СУЖАЮЩАЯСЯ ДОРОЖКА





Выводы

В ходе эксперимента установлено, что ударное повреждение зоны сенсомоторной коры у крыс вызывает **стойкий неврологический дефицит**, наиболее выраженный в первые сутки после травмы с постепенным улучшением состояния животных в течение последующих дней.

Выводы

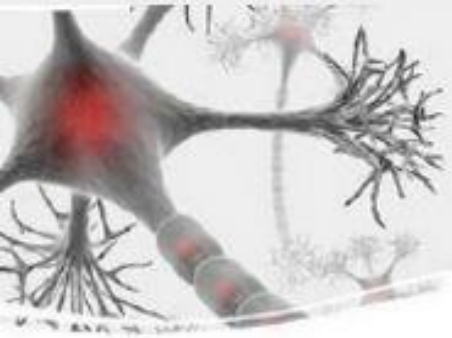
- При курсовом внутрибрюшинном введении в течение 7 дней новое соединение (2E)-4-[2-(диэтиламино)этокси]-4-оксобут-2-еновой кислоты бутандиоат (2:1) способствует снижению неврологического дефицита и улучшению ориентировочно-исследовательского поведения у крыс на фоне черепно-мозговой травмы, вызванной методом контролируемого кортикального ушиба.
- Наибольшая эффективность нового соединения наблюдается при его введении в дозе 10 мг/кг.



Выводы

- Нейропротекторная активность ФДЭС в дозе 10 мг/кг сопоставима с цитиколином в дозе 500 мг/кг, как было показано в большинстве тестов.
- Изучаемое соединение не оказывает влияния на поведение животных на фоне ЧМТ, что наблюдалось в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», в отличие от близких по химической структуре соединений – холина альфосцерата и цитиколина.





Благодарю За Внимание