

**Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства Обороны Российской Федерации**

**На правах рукописи**

**ЛЕБЕДЕВ**

**Виктор Андреевич**

**ЦЕНТРАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПОЛИПРЕНОЛСОДЕРЖАЩИХ  
ПРЕПАРАТОВ**

**14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология**

**Диссертация**

**на соискание ученой степени**

**кандидата биологических наук**

**Научный руководитель**

**доктор медицинских наук профессор**

**Петр Дмитриевич Шабанов**

**Санкт-Петербург**

**2014**

Работа выполнена на кафедре фармакологии Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук профессор **Петр Дмитриевич Шабанов**

**Официальные оппоненты:**

**Крауз Владислав Алексеевич**, доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии

**Родичкин Павел Васильевич**, доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена» Министерства образования и науки Российской Федерации, профессор кафедры организации и методики физической культуры

**Ведущая организация:**

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2014 года в \_\_ часов \_\_ минут на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 001.022.03 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» Северо-Западного отделения РАМН по адресу: 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на веб-сайте при ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН по ссылке  
<http://www.iemrams.spb.ru/russian/diss/ds3/lebedev/d3lebedev.pdf>

Автореферат разослан « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2014 года

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор биологических наук

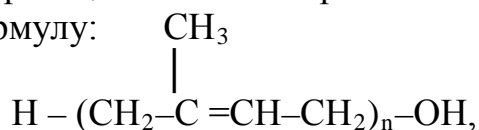
**Хныченко Людмила Константиновна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования

Современная фармакология требует открытия и изучения новых нейпротекторов и средств защиты печени, в том числе растительного происхождения. К их числу может быть отнесен и ропрен, получаемый из нейтральной части хвои сосны и ели. И хотя ропрен зарегистрирован и позиционирован, прежде всего, как гепатопротектор, у него обнаружены нейропротекторные свойства при ишемии и токсическом поражении головного мозга (Шабанов П.Д., Султанов В.С., 2012).

Ропрен представляет собой смесь полипrenoлов, природных линейных полимеров, содержащих 8-18 изопреновых единиц, и имеет следующую структурную формулу:



где  $n$  – число изопреновых звеньев от 8 до 18.

Препарат разрешен к практическому применению (регистрационный номер ЛСР-001521/07), его получают по способу, описанному в патенте RU2238291. Ропрен производства ОАО «Фармацевтическая фабрика», Санкт-Петербург, рассматривается как концентрат полипrenoлов (с содержанием суммы полипrenoлов 95%), он рекомендован в качестве гепатопротекторного средства растительного происхождения (Код АТХ05ВА). Показаниями к применению ропрена являются жировая дистрофия печени различной этиологии, гепатит, цирроз печени (в комплексном лечении), токсические поражения печени (алкогольные, наркотические, лекарственные).

Использование ропрена стимулирует репаративно-регенерационные процессы в печени, восстанавливает нарушенный гомеостаз, выводит токсины, способствует повышению активности антиоксидантной системы организма. Наряду с этим отмечено стимулирующее действие ропрена на уровень неспецифической резистентности организма (нейтрофильного и моноцитарного звена). В ходе лечения больных с патологией печени было установлено, что ропрен обладает еще иммуномодулирующим действием, оказывает нормализующее влияние на измененный статус организма, особенно на клеточное звено иммунитета, о чем свидетельствует повышение активных Т-лимфоцитов и индекса  $T_{\text{хелперы}}/T_{\text{супрессоры}}$ . Применение ропрена снижает уровень аллергической напряженности организма, что подтверждается снижением циркулирующих иммунных комплексов и эозинофилов крови (Свидерский В.Л. и др., 2006).

Вместе с тем, ропрен – это высококонцентрированный препарат полипrenoлов, применяемый как гепатопротектор в достаточно высоких дозах. Имеются сведения, что малые дозы полипrenoлов могут проявлять и нейропротекторную активность, особенно при хронических ишемических повреждениях головного мозга (Свидерский В.Л. и др., 2007).

### **Степень разработанности темы**

Центральные эффекты ропрена и вообще полипrenoлов изучены недостаточно. Более того, нет точных сведений о мишенях и интимных механизмах действия полипrenoлов на центральную нервную систему (ЦНС) и высшие функции мозга. Не изучено влияние полипrenoлов на нейромедиаторные процессы в клетках головного мозга, по-видимому, во многом определяющих психоактивирующее действие препарата. Все указанное позволило сформулировать цель и задачи настоящей работы.

### **Цель и задачи исследования**

**Целью исследования** было изучение поведенческих, антитоксических и нейропротекторных эффектов полипrenoлов у крыс.

#### **Задачи исследования:**

1) Исследовать влияние полипrenoлов на поведение крыс в тестах «открытое поле», приподнятый крестообразный лабиринт, «чужак-резидент», ротации, вынужденной беспомощности Порсолта, самостимуляции латерального гипоталамуса.

2) Исследовать поведение, состояние системы крови и морфологию печени крыс с экспериментальным гепатозом и токсической энцефалопатией, вызванной подострым введением четыреххлористого углерода.

3) Исследовать нейропротекторные эффекты полипrenoлов на модели подострого гепатоза и токсической энцефалопатии, вызванной четыреххлористым углеродом у крыс.

4) Исследовать влияние полипrenoлов на метаболизм моноаминов (дофамина, норадреналина и серотонина) в двигательных и эмоциогенных структурах головного мозга крыс.

### **Научная новизна**

Отсутствие четких представлений о системных эффектах полипrenoл-содержащих препаратов и интимных механизмах их действия позволили автору сосредоточить основное внимание на изучении поведенческого спектра эффектов ропрена и выяснении его нейропротекторных свойств в модели экспериментального токсического поражения головного мозга. Показано, что полипrenoлы в широком диапазоне доз (2,2-4,3-11,6 мг/кг) обладают умеренными психоактивирующими свойствами, антидепрессантной активностью, способностью изменять подкрепляющие свойства головного мозга. Указанные особенности действия полипrenoлов на ЦНС связаны, по-видимому, с изменением обмена моноаминов, в частности дофамина, в головном мозге. В действии препарата можно выделить, по крайней мере, два направления: первое связано с эффектами на эмоциональную сферу (депрессивность, подкрепление), второе – с двигательными эффектами препарата (в основном, нормализация разных видов двигательной активности, сниженной вследствие токсических воздействий на мозг). Традиционно эти виды фармакологической активности связывают с влиянием на нейромедиаторные системы мозга. Действительно, полипrenoлы, применяемые в сравнительно низких дозах (2,2-4,3 мг/кг) повышают активность мезолимбической (прилежащее ядро) и нигростриатной (стриатум) дофаминергических систем у крыс с подострым

гепатозом и токсической энцефалопатией. Этот эффект не связан с гепатопротекторными свойствами полипrenoлов. Данное положение подтверждается фактом, что гепатопротектор адеметионин (гептрал) таким действием не обладает. Сказанное позволяет отнести полипrenoлы к перспективным современным средствам с выраженным центральным психоактивирующим действием и способностью защищать печень и другие внутренние органы от действия токсикантов типа четыреххлористого углерода.

### **Теоретическая и практическая значимость**

В результате проведенных исследований получены новые данные о системных нейропротекторных, гепатопротекторных, антитоксических и эмоциогенных свойствах полипrenoлсодержащих препаратов, в частности, малых доз ропрена. В модельных опытах на крысах, у которых воспроизвели подострый гепатоз введением четыреххлористого углерода доказано, что полипrenoлы в дозах 2,2-4,3-11,6 мг/кг оказывает нормализующее действие на двигательную и исследовательскую активность, а также эмоциональность крыс, нарушенную  $CCl_4$ . Препарат сравнения адеметионин (гептрал 300 мг/кг) такого действия не оказывает. Полипrenoлы проявляют умеренное антиагрессивное действие, превышающее таковое для адеметионина, включая высокую степень защиты (защитного поведения) у экспериментальных животных. Полипrenoлы нормализуют показатели крови, нарушенные введением  $CCl_4$ . Гепатопротекторное действие полипrenoлов заключается в нормализации морфологического повреждения печени при экспериментальном гепатозе (белковой и жировой дистрофии), вызванном  $CCl_4$ . Максимальный гепатопротекторный эффект регистрируется при введении ропрена в дозе 11,6 мг/кг и гептрала в дозе 300 мг/кг (данные сопоставимы статистически). В противоположность адеметионину полипrenoлы в дозах 2,2-4,3-11,6 мг/кг оказывают умеренное психоактивирующее действие, в основе которого лежит их влияние на активность дофаминергических систем головного мозга: у крыс с подострым гепатозом и токсической энцефалопатией полипrenoлы повышают активность мезолимбической (прилежащее ядро) и нигростриатной (стриатум) дофаминергических систем, тогда как адеметионин таким действием не обладает. В целом продемонстрирована фармакологическая близость гепатопротекторных эффектов полипrenoлов (особенно в дозе 11,6 мг/кг) и адеметионина, но принципиальное отличие в их центральных эффектах. Изучение этих и родственных с ними вопросов во многом может приблизить нас к пониманию механизмов действия полипrenoлсодержащих препаратов и к разработке конкретных рекомендаций по их использованию в неврологической практике.

### **Методология и методы исследования**

Методология исследования состояла в изучении у крыс поведенческих эффектов полипrenoлов растительного происхождения в разных дозах (2,2-4,3-11,6-13,4 мг/кг), оцененных в батарее тестов («открытое поле», приподнятый крестообразный лабиринт, ротационный тест, «чужак-резидент», тест Порсолта, самостимуляция латерального гипоталамуса), моделировании подострого гепатоза с энцефалопатией введением  $CCl_4$  с последующей оценкой

гепато- и нейропротекторных эффектов полипренолов в сравнении с адеметионином на основании поведенческих тестов, биохимии крови, морфологических изменений в печени и нарушений обмена моноаминов (дофамина и серотонина) в головном мозге. Исследования выполнены с соблюдением всех правил доказательной медицины.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Полипренолы в дозах 4,3-8,6-13,4 мг/кг при их курсовом введении (5-7 дней) умеренно активируют двигательную активность, проявляют анксиогенное действие, подавляют индивидуальное поведение и оказывают двухфазный эффект (подавление-активация) на поведение самостимуляции в камере Скиннера у интактных крыс.

2. В модели экспериментального подострого гепатоза с энцефалопатией, вызванного  $CCl_4$ , полипренолы в дозах 2,2-4,3-11,6 мг/кг нормализуют двигательную и исследовательскую активность, а также эмоциональность крыс, проявляют умеренное антиагрессивное действие, при этом препарат сравнения адеметионин 300 мг/кг такого действия не оказывает.

3. Полипренолы в дозах 2,2-4,3-11,6 мг/кг, так же как и препарат сравнения адеметионин, нормализуют показатели крови, нарушенные введением  $CCl_4$ , и восстанавливают нормальную морфологическую структуру печени при токсическом подостром гепатозе (антитоксическое действие). Эффекты полипренолов 11,6 мг/кг и адеметионина 300 мг/кг приблизительно равны.

4. Полипренолы в дозах 2,2-4,3-11,6 мг/кг оказывает центральное психоактивирующее действие, в основе которого лежит его влияние на активность дофаминергических систем головного мозга. Это выявляется в модели подострого гепатоза с токсической энцефалопатией, когда полипренолы повышают активность мезолимбической (прилежащее ядро) и нигростриатной (стриатум) дофаминергических систем. Адеметионин таким действием не обладает.

#### **Степень достоверности и апробация материалов исследования**

**Степень достоверности** определяется большим количеством экспериментальных животных (306 крыс), рандомизацией и формированием групп сравнения и активного контроля, адекватными поведенческими, токсикологическими, морфологическими, биохимическими и фармакологическими методами исследования, длительными сроками наблюдения и корректными методами статистической обработки.

**Реализация результатов.** Материалы исследования используются в лекционном курсе кафедры фармакологии Военно-медицинской академии имени С.М.Кирова, кафедры терапии, нервных болезней и психиатрии Института медицинского образования Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого. Работа выполнена в соответствии с плановыми научно-исследовательскими разработками Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Материал диссертации вошел в грантовые разработки Российского фонда фундаментальных исследований РАН (РФФИ №10-04-00473).

**Апробация результатов.** Материалы, вошедшие в диссертацию, доложены на научной конференции Российской ассоциации психонейроэндокринологии (Санкт-Петербург, 2010), международных конференциях «Актуальные проблемы химии природных соединений» (Ташкент, 2010) и «Новые технологии в медицине и экспериментальной биологии» (Рио-де-Жанейро, 2011), 4-ом съезде фармакологов России (Казань, 2012). По теме диссертации опубликованы 4 статьи (3 в журналах, рекомендованных ВАК РФ) и 4 тезиса. Апробация диссертации прошла на совместном заседании кафедры фармакологии и НИО обитаемости НИЦ Военно-медицинской академии им. С.М.Кирова.

**Личный вклад автора.** Личный вклад автора осуществлялся на всех этапах работы и состоял в планировании экспериментов, их непосредственном выполнении, обработке полученных результатов, обсуждении результатов, написании статей и тезисов, написании диссертации и автореферата. Участие автора в выполнении, сборе и анализе – 95%, статистической обработке – 100%, в написании статей и тезисов – 90%, написании диссертации и автореферата – 95%.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, главы обзора литературы, материалов и методов исследования, главы результатов собственных исследований (включающей 7 разделов), обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа изложена на 141 странице машинописного текста, иллюстрирована 32 рисунками и 9 таблицами. Библиографический указатель содержит 158 наименований, в том числе 62 отечественных и 96 иностранных.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Глава 1** представляет собой обзор литературы и описывает химию, биохимию и фармакологию полипренолов (изопреноидов).

**Глава 2** включает описание основных методических приемов, которые были использованы при выполнении диссертации.

**Глава 3** объединяет результаты собственных исследований автора.

**Глава 4** представляет собой обсуждение полученных результатов.

**В заключении** приведены выводы, научно-практические рекомендации и список использованных литературных источников.

### Материалы и методы исследования

Опыты выполнены на 306 крысах Вистар массой 200-220 г, выращенных в группе по 5 особей в стандартных пластмассовых клетках в условиях вивария. Животных содержали в однополых группах в условиях вивария при свободном доступе к воде и пище в условиях инвертированного света 8.00-20.00 при температуре  $22\pm 2^\circ\text{C}$ . Все поведенческие опыты проводили на половозрелых животных в возрасте 90-100 дней в осенне-зимний период. После

проведения всех поведенческих опытов животных декапитировали, извлекали мозг и готовили гистологические препараты.

Оценку поведения проводили в «открытом поле» (двигательная и исследовательская активность), приподнятом крестообразном лабиринте (тревожность), тесте «чужак-резидент» (агрессивность), тесте Порсолта (антидепрессантный эффект), ротационном тесте (асимметрия мозга, стереотипии), самостимуляции латерального гипоталамуса (подкрепление).

**Свободную двигательную активность** животных исследовали в тесте «открытого поля» (Михеев В.В., Шабанов П.Д., 2007), представляющего собой круглую площадку диаметром 80 см с 16 отверстиями (норками) диаметром 3 см каждая. Продолжительность одного опыта составляла 3 мин. Регистрировали ряд элементарных двигательных актов и поз: горизонтальную и вертикальную активность, груминг, заглядывание в норки, дефекацию, уриацию.

**Исследование функциональной асимметрии мозга** определяли с помощью метода ротации. Подсчитывали число ротаций в полусфере диаметром 30 см через 30 мин после введения фенамина (2,5 мг/кг) за два последовательных периода по 10 мин, используя для анализа средние значения (определяемые за 10 мин). Регистрировали число полных вращений на 360° отдельно вправо и влево, а также число неполных ротаций от 90° до 360°. В последние 10 с каждой минуты тестирования в ротометре определяли также показатель стереотипии по 6-бальной шкале (Лебедев А.А. и др., 1995).

**Исследование тревожности** проводили в приподнятом крестообразном лабиринте. Лабиринт состоял из двух открытых рукавов 50x10 см и двух закрытых рукавов 50x10 см с открытым верхом, расположенных перпендикулярно относительно друг друга. Высота над полом 1 м. Животное помещали в центр лабиринта. Путем нажатия соответствующей клавиши этографа, связанного с компьютером, фиксировали время пребывания в закрытых и открытых рукавах, время свешивания в открытых рукавах и выглядывания из закрытых рукавов. Продолжительность теста составляла 5 мин.

**Агрессивность** изучали у половозрелых крыс самцов в тесте «чужак-резидент» в соответствии с описанием этологического атласа (Михеев В.В., Шабанов П.Д., 2007). Смысл методики состоит в том, что к крупному самцу, находящемуся в клетке (резиденту), подсаживают более мелкое животное (чужака). Регистрировали число поведенческих проявлений агрессивности и защиты, а также общее число поведенческих актов, описывающих взаимоотношение двух особей крыс.

**Исследование антидепрессантной активности** осуществляли в тесте Порсолта. Плавательный тест «отчаяния» Порсолта (Porsolt R.D. et al., 1978) предусматривает оценку двигательной активности крыс, помещенных в стеклянный цилиндр диаметром 20 см и высотой 40 см, на 1/3 заполненный водой с температурой 27±1°C. Животное помещают в цилиндр на 6 мин, регистрируют время активного и пассивного плавания и время иммобилизации. Увеличение активного плавания и уменьшение времени иммобилизации рассматривают как антидепрессантный эффект.



**Исследование реакции самостимуляции** производили в камере Скиннера. Билатерально в латеральное гипоталамическое ядро вживляли электроды (König K.P., Klippel A.A., 1963). Через 10 дней после вживления электродов в мозг крыс обучали нажимать на педаль для получения электрического раздражения мозга (пороговые значения тока в режиме «фиксированных пачек»). Частоту и длительность нажатий регистрировали автоматически (Лебедев А.А., Шабанов П.Д., 1992). По окончании всех опытов производили морфологический контроль локализации кончиков электродов на серии фронтальных срезов мозга, которые окрашивали по методу Ниссля.

**Экспериментальный подострый гепатоз** (токсическое поражение печени) моделировали внутрибрюшинным введением крысам 50%-ного раствора  $CCl_4$  в дозе 1000 мг/кг на 1-й и 4-й дни опыта. В связи с нарастающей гибелью экспериментальных животных (более 50%) дальнейшее введение  $CCl_4$  не производили. Каждая крыса получила 2000 мг/кг  $CCl_4$  за опыт.

В соответствии с протоколом исследования все животные были разделены на 7 групп, каждая из которых включала 10-14 крыс: 1) получала внутрибрюшинно (в/бр) физиологический 0,9%-ный раствор хлорида натрия; 2) получала в/бр раствор  $CCl_4$  + физиологический раствор 14 дней; 3) получала  $CCl_4$  + полипrenoлы 2,2 мг/кг в/бр ежедневно 14 дней; 4) получала  $CCl_4$  + полипrenoлы 4,3 мг/кг в/бр ежедневно 14 дней; 5) получала  $CCl_4$  + полипrenoлы 11,6 мг/кг в/бр ежедневно 14 дней; 6) получала  $CCl_4$  + гептрал раствор 300 мг/кг в/бр на основе лиофилизата ежедневно 14 дней; 7) получала  $CCl_4$  + гептрал раствор 300 мг/кг в/бр на основе таблеток ежедневно 14 дней.

Тестирование поведения начинали на 14-й день через 0,5-1 ч после последнего введения исследуемых веществ. Поведенческие тесты проводили в течение 2 последовательных дней.

Забой животных осуществляли на 16-й день опыта. После декапитации крыс производили взятие крови, печени и мозга (стриатум, прилежащее ядро и префронтальная кора). В случае выпадения животных из опыта (гибель вследствие токсического действия  $CCl_4$ ) группы дополняли новыми животными, опыт в этом случае смещался во времени, но его схема сохранялась.

**Для биохимического анализа кровь** всех животных забирали в сухие стерильные пробирки. Материал центрифугировали при 3000 об./мин. Сыворотку отбирали для дальнейшего биохимического анализа на общий белок, глюкозу, холестерол, креатинин, мочевины,  $\alpha$ -амилазу, лактатдегидрогеназу, триглицериды, общий билирубин, аспартат-аминотрансферазу (АСТ), аланин-аминотрансферазу (АЛТ), связанный билирубин, щелочную фосфатазу, мочевую кислоту, креатин-фосфокиназу (КФК), фосфор, липопротеиды низкой плотности и  $\gamma$ -глутамилтрансферазу. Материал исследовали на биохимическом анализаторе Sapphire 400 (производства фирмы Sapphire, Япония) с использованием реактивов системы Randox (RANDOX Laboratories Ltd., United Kingdom).

**Ткань печени** крыс фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина в течение 24 ч, после чего материал проходил стандартную обработку в спиртах нарастающей концентрации (70-95%), ксилоле и парафине

для изготовления гистологических препаратов с толщиной серийных парафиновых срезов 3-5 мкм. Для микроскопического исследования срезы окрашивались гематоксилином и эозином. Морфологическое исследование гистологических препаратов проводили при помощи светооптического микроскопа Leica DM LS (Япония) в пяти полях зрения при увеличении 200. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой фотокамеры Leica DC320 (Япония).

Масштаб патологических изменений в дольке, учитывая ее строение в виде шестигранника, оценивался как: поражение 1/3, 1/2, 2/3 и 3/4 дольки. Патогистологическую оценку изменений в печени проводили по трехбалльной системе: 1 балл – слабо выраженные изменения; 2 балла – умеренно выраженные изменения; 3 балла – выраженные изменения.

**Биохимическое исследование мозга** проводили после декапитации, структуры мозга извлекали на льду и замораживали в жидком азоте. Пробы гомогенизировали в 10 объемах 0,1 М  $\text{HClO}_4$  и центрифугировали при 15 000 g в течение 10 мин. Содержание моноаминов и их метаболитов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с электрохимической детекцией (Ротенко А.А. и др., 2006). Надосадочную жидкость в количестве 20 мкл наносили на аналитическую колонку Zorbax C18. Стандартные исследуемые растворы медиаторов и их метаболитов (Sigma, США) приготавливали на основе бидистиллированной воды. Норадреналин (НА), дофамин (ДА), серотонин (СЕР), а также 3,4-диоксифенилуксусную (ДОФУК), гомованилиновую (ГВК), 5-гидроксииндолуксусную кислоты (5-ГИУК) разделяли с использованием в качестве подвижной фазы 0,1 молярного цитратно-фосфатного буфера, содержащего 0,3 ммоль октансульфоната натрия, 0,1 ммоль ЭДТА и 10% ацетонитрила (рН 3,2). Определение моноаминов и их метаболитов осуществляли на стеклоуглеродном электроде при потенциале +0,7 мВ против  $\text{Ag}/\text{AgCl}$  электрода сравнения. Скорость потока подвижной фазы составляла 0,8 мл/мин.

**Для нейрофармакологического анализа** использовали полипrenoлы в виде 25%-ного масляного раствора в дозах 2,2-4,3-8,6-11,6-13,4 мг/кг, прямой адреномиметик фенамин (1-2,5 мг/кг) для инициации стереотипного поведения, гепатопротектор адemetионин (гептрал, или S-аденозил-L-метионин) в дозе 300 мг/кг. Выбор доз полипренолов основывался на рекомендациях разработчика и ранее полученных результатах исследований на грызунах (Андреева Н.И., 2002). Все вещества вводили внутривентриально в виде курса в течение 5-7 дней (1-я серия) или 14 дней (2-я серия), каждая инъекция за 40-60 мин до начала опыта. В качестве контроля использовали введение 0,9%-ного раствора хлорида натрия.

**Статистическая обработка результатов.** Выборка для каждой группы животных составила не менее 10-12 крыс. Результаты обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента, непараметрического критерия U Вилкоксона-Манна-Уитни, дисперсионного анализа по методу

ANOVA и однофакторного дисперсионного анализа с последующим Newman-Keuls post-hoc анализом.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **Исследование поведенческих эффектов полипrenoлов**

Первый раздел исследований предусматривал изучение влияния полипrenoлов в 3 дозах (4,3 мг/кг, 8,6 мг/кг и 13,4 мг/кг) при их курсовом введении (5-7 дней, 1 инъекция в сутки) на разные виды поведения крыс: поведение в открытом поле, в приподнятом крестообразном лабиринте, в тесте «чужак-резидент», в ротометре (стереотипное поведение), в тесте Порсолта, в тесте самостимуляции латерального гипоталамуса.

Исследование влияния курсового введения полипrenoлов (5 дней) на поведение крыс в «открытом поле» показало, что независимо от дозы (4,3-8,6-13,4 мг/кг) полипrenoлы умеренно активировали горизонтальную, не влияя на вертикальную двигательную активность. Полипrenoлы подавляли (в 3-4 раза) норковый рефлекс (исследовательская активность), умеренно снижали груминг (только в дозе 13,4 мг/кг) и общую эмоциональность животных (в дозах 4,3 и 13,4 мг/кг, но не 8,6 мг/кг), оцененную по болюсам дефекаций.

В дозе 8,6 мг/кг полипrenoлы повышали число болюсов дефекации, что указывает на умеренное повышение эмоциональности при использовании данной дозы препарата. Таким образом, в тесте «открытого поля» полипrenoлы не проявляют дозозависимого эффекта. В целом, полипrenoлы растормаживают (активирует) горизонтальную двигательную активность при умеренном снижении всех других поведенческих паттернов (прежде всего, исследовательской активности и эмоциональности).

Одним из наиболее типичных дофаминзависимых форм поведения является ротационное и стереотипное поведение. Непрямой дофаминомиметик фенамин (2,5 мг/кг) в среднем в 4 раза повышал число вращений как влево, так и вправо ( $p < 0,01$ ). Полипrenoлы (13,4 мг/кг) при курсовом введении в течение 5 дней умеренно подавляли вращение влево и не влияли на показатели вращения вправо. Во всех случаях полипrenoлы не вызывали стереотипного поведения, характерного для активации дофаминергической системы мозга.

Таким образом, в отличие от фенамина полипrenoлы (13,4 мг/кг) умеренно подавляют ротационное поведение крыс в ротометре и не вызывают стереотипий. Это указывает на возможное участие дофаминергической системы мозга (ее умеренное подавление) в эффектах полипrenoлов.

Приподнятый крестообразный лабиринт позволяет оценить анксиолитические (противотревожные) или анксиогенные (тревожные) свойства фармакологических препаратов, оцениваемые по времени пребывания в затемненных и освещенных рукавах лабиринта. Увеличение времени пребывания в освещенных рукавах лабиринта и повышение числа выглядываний и свешиваний с открытых площадок лабиринта квалифицируется как анксиолитический (противотревожный) эффект, а уменьшение этих показателей – как анксиогенный (тревожный) эффект.

Исследование влияния полипренолов (4,3-8,6-13,4 мг/кг) при курсовом введении в течение 5 дней на поведение крыс в приподнятом крестообразном лабиринте показало (табл. 1), что только в дозе 13,4 мг/кг полипренолы вдвое уменьшали время пребывания в освещенных рукавах лабиринта. Вместе с тем, зависимо от дозы полипренолы в 2-5 раз снижали число выглядываний из темных рукавов и в 2 раза снижали число свешиваний с открытых платформ лабиринта (в дозах 4,3 и 13,4 мг/кг, но не 8,6 мг/кг). В дозе 8,6 мг/кг полипренолы повышали число выглядываний из затемненных рукавов лабиринта, однако данный показатель не является основным, а рассматривается как вспомогательный при оценке анксиолитического или анксиогенного действия фармакологических веществ.

Таблица 1  
Влияние полипренолов (4,3-8,6-13,4 мг/кг) на поведение крыс в приподнятом крестообразном лабиринте

Препараты	Поведенческие акты			
	Время в открытых рукавах (мин)	Время в закрытых рукавах (мин)	Число выглядываний	Число свешиваний
0,9% раствор NaCl (контроль)	0,4±0,1	4,6±0,2	10,2±1,3	6,2±0,8
Полипренолы 4,3 мг/кг	0,4±0,1	4,6±0,2	5,7±0,7*	3,7±0,5*
Полипренолы 8,6 мг/кг	0,5±0,1	4,5±0,2	3,2±0,4**	10,0±1,4*
Полипренолы 13,4 мг/кг	0,2±0,1*	4,8±0,3	2,1±0,3**	3,3±0,4*

Примечание. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  в сравнении с соответствующим контролем.

Таким образом, полипренолы проявляют умеренную анксиогенную активность, которая наиболее стабильно воспроизводится при введении препарата в дозе 13,4 мг/кг.

Агрессивное поведение контролируется преимущественно холинергической и дофаминергической системами мозга. Влияние полипренолов при курсовом введении в течение 5 дней на показатели системы агрессия-защита в тесте «чужак-резидент» показало, что полипренолы вне зависимости от дозы существенно (в 3,5-7 раз) подавляли проявления общительности и паттерны индивидуального поведения. При этом в дозе 13,4 мг/кг полипренолы растормаживали систему агрессии и защиты. В последнем случае у контрольных животных практически не отмечено проявление агрессии, хотя после введения полипренолов в наибольшей изучаемой дозе показатели агрессии умеренно повышались ( $p < 0,01$ ). Параллельно этому активировалась и система защиты. Это закономерно, поскольку система защиты, как правило, активируется при повышении показателей агрессивности. В то же время существуют лекарственные средства, например, прямой дофаминомиметик апоморфин, которые избирательно повышают только систему агрессии, не влияя на систему защиты.

Таким образом, полипренолы в тесте «чужак-резидент» не оказывают дозозависимого эффекта, значимо подавляя индивидуальное поведение и общительность (коммуникативность) животных. Видимого антиагрессивного действия полипренолы не оказывают. В дозах 4,3 и 8,6 мг/кг полипренолы не оказывают агрессивного/антиагрессивного действия, а в большой дозе (13,4 мг/кг) проявляют незначительное агрессивное действие с одновременной активацией системы защиты.

Тест Порсолта используется для оценки антидепрессантного действия лекарственных препаратов. В условиях наших экспериментов полипренолы при курсовом введении в течение 5 дней существенно (в 4-5 раз) увеличивали время иммобилизации животных, мало меняя показатели активного и пассивного плавания (табл. 2). Время иммобилизации является основным показателем, по которому оценивают антидепрессантное действие препарата. Увеличение этого показателя говорит о наличии депрессантных (подавляющих ЦНС) свойств, а уменьшение, напротив, – о проявлении антидепрессантных свойств.

Таблица 2

Влияние полипренолов (4,3-8,6-14,3 мг/кг) на поведение в тесте Порсолта у крыс

Препараты	Показатель, с		
	Активное плавание	Пассивное плавание	Иммобилизация
0,9% раствор NaCl (контроль)	18,5±2,4	369,5±18,0	2,8±0,4
Полипренолы 4,3 мг/кг	15,3±2,0	262,7±47,2*	12,1±1,6**
Полипренолы 8,6 мг/кг	18,8±2,4	353,3±45,9	15,8±2,1**
Полипренолы 13,4 мг/кг	14,3±1,9*	346,2±45,0	17,1±2,2**

Примечание. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  в сравнении с соответствующим контролем.

Только в дозе 13,4 мг/кг полипренолы умеренно уменьшали время активного плавания, в дозе 4,3 мг/кг – пассивного плавания, а в дозе 8,6 мг/кг – не меняли времени активного и пассивного плавания крыс.

Следовательно, полипренолы оказывают депрессантный эффект на поведение в тесте Порсолта. Степень выраженности депрессантного эффекта полипренолов может рассматриваться как умеренная.

Для изучения систем мозгового подкрепления обычно используют реакцию самостимуляции (показатель первично подкрепляющих свойств, или безусловного подкрепления. Реакция самораздражения латерального гипоталамуса представляет собой жестко детерминированную реакцию, легко воспроизводимую и трудно поддающуюся изменению. Лишь одна группа препаратов – психостимуляторы (фенилалкиламины, сиднонимины, в меньшей степени кофеин) – стабильно активируют реакцию самостимуляции. Все дру-

гие фармакологические средства либо не влияют на нее, либо угнетают (например, нейролептики, транквилизаторы и т.д.).

Самостимуляцию гипоталамуса регистрировали последовательно после каждого из 7 дней введения полипренолов в дозах 4,3-8,6-13,4 мг/кг. В первые 2 дня исследования (введения полипренолов) препарат полипренолов либо не влиял (13,4 мг/кг), либо умеренно (на 18-28%) угнетал реакцию самостимуляции в дозах 4,3-8,6 мг/кг. Начиная с 3-го дня введения полипренолы (8,6 и 13,4 мг/кг) на 27-39% увеличивали реакцию самостимуляции, оказывая типичный психоактивирующий эффект. Этот положительный эффект проявлялся и на 4-5 дни введения полипренолов в дозах 8,6 и 13,4 мг/кг с максимумом (+39%) на 3-й день. В то же время на 3-й день введения полипренолы в дозе 4,3 мг/кг выражено подавляли реакцию самостимуляции (-34% против -11% в контроле); подавление данной реакции прослеживалось в течение всех пяти дней эксперимента, когда вводили полипренолы в данной дозе (то есть, на 3-й, 4-й и 5-й дни).

Следует отметить, что психоактивирующий эффект препарата полипренолов, проявляющийся после его введения в дозах 8,6 и 14,3 мг/кг, последовательно уменьшался (на 4-й день на 15%, на 5-й день – на 12-16%).

На 6-й и 7-й дни анализировали действие полипренолов на реакцию самостимуляции в камере Скиннера на фоне введения психостимулятора фенамина. Сам фенамин (1 мг/кг) дает четкую реакцию активации самостимуляции на 35-37%. На фоне введения полипренолов и независимо от их дозы фенамин сохранил свой психоактивирующий эффект, повышая число нажатий на педаль на 27-45%, то есть в том интервале, который характерен (типичен) для самого фенамина.

Таким образом, действие полипренолов на реакцию самостимуляции зависит от продолжительности его введения. В первые дни введения полипренолы, как правило, умеренно подавляют реакцию самостимуляции, затем эффект сменяется на умеренный психоактивирующий, который по мере введения препарата снижается. Кроме того, полипренолы не проявляют функционального антагонизма с психостимулятором фенамином, на фоне его введения фенамин в полной мере проявляет свой психоактивирующий эффект, активируя самостимуляцию на тот порядок, который характерен для введения самого фенамина.

### **Исследование поведенческих и нейрохимических эффектов полипренолов при подостром гепатозе**

Исследование предусматривало изучение влияния полипренолов в 3 дозах (2,2- 4,3-11,6 мг/кг) при их курсовом введении (14 дней, 1 инъекция в сутки) на разные виды поведения крыс с подострым гепатозом: поведение в открытом поле, в приподнятом крестообразном лабиринте, в тесте «чужак-резидент», в тесте Порсолта, в тесте самостимуляции латерального гипоталамуса.

**Характеристика экспериментальной модели.** Двукратное внутрибрюшинное введение крысам 50%-ного раствора  $CCl_4$  (одно введение соответствовало 1000 мг/кг  $CCl_4$ ) на 1-й и 4-й дни опыта приводило к развитию явного токсического действия гепатотропного яда. Летальность крыс, не защищенных гепатопротекторами, после первого введения  $CCl_4$  составила около 40%, после второго введения – увеличилась до 50% (ЛД<sub>50</sub>). В связи с нарастающей гибелью экспериментальных животных дальнейшее введение  $CCl_4$  не производили. В целом, каждая крыса получила 2000 мг/кг  $CCl_4$  за опыт.

В крови крыс, забитых на 16-й день опыта, регистрировали признаки поражения внутренних органов: печени, миокарда, поджелудочной железы, почек. В частности, у крыс, получавший  $CCl_4$ , в 2 раза возрастала активность аспаратаминотрансферазы (с  $123,1 \pm 14,4$  до  $248,6 \pm 10,4$  МЕ/л), в 4 раза – лактатдегидрогеназы (с  $22,8 \pm 9,3$  до  $88,7 \pm 49,7$  МЕ/л), умеренно повышалась активность  $\alpha$ -амилазы (с  $1708,8 \pm 40,9$  до  $1930,8 \pm 35,4$  МЕ/л), снижалась активность  $\gamma$ -глутамилтрансферазы (с  $2,33 \pm 0,83$  до  $0,98 \pm 0,97$  МЕ/л), общего и непрямого билирубина, мочевой кислоты, липопротеидов низкой плотности.

При гистологическом исследовании печени у крыс был выявлен экспериментальный гепатоз (дистрофия печени), который характеризовался развитием следующих гистологических проявлений: гиалиново-капельной белковой дистрофией; мелкокапельной жировой дистрофией; слабо выраженной лимфоцитарной инфильтрацией портальных трактов.

Гистологическая картина в группах лабораторных животных распределялась следующим образом. В группе 1 (крысы, получавшие физиологический раствор) печень имела нормальное гистологическое строение (рис. 1). В печеночных дольках радиальное расположение балок из гепатоцитов в виде радиально отходящих от центральной вены к портальным трактам тяжей, гепатоциты с розовой цитоплазмой и синими ядрами, местами цитоплазма имела различную оптическую плотность, связанную со степенью накопления гликогена. Дистрофические и некротические изменения отсутствовали, наблюдалась незначительная лимфоидная инфильтрация портальных трактов, в которых имелись триады – артерия, вена и желчный проток, окруженные незначительным количеством соединительнотканной стромы. Синусоиды в дольках не расширены, наблюдалось полнокровие центральных вен.

В группе 2 (крысы, получавшие  $CCl_4$  + физиологический раствор) на фоне нарушения балочного строения на большем протяжении в печени имела паренхиматозная дегенерация в виде белковой гиалиново-капельной дистрофии, которая поражала гепатоциты всех печеночных долек на  $1/3 - 2/3$  протяженности балок, местами захватывала дольки очагово в виде мелкокапельной жировой дистрофии, локализовалась перипортально (рис. 2). В трактах наблюдалась слабо выраженная мононуклеарная инфильтрация, некроз гепатоцитов отсутствовал. В соответствии с балльной оценкой степени патогистологических изменений можно было констатировать 2-3 балльное поражение печени крыс данной группы – гистологические изменения соответст-

вовали картине умеренной и выраженной токсической паренхиматозной дистрофии печени (гепатозу).

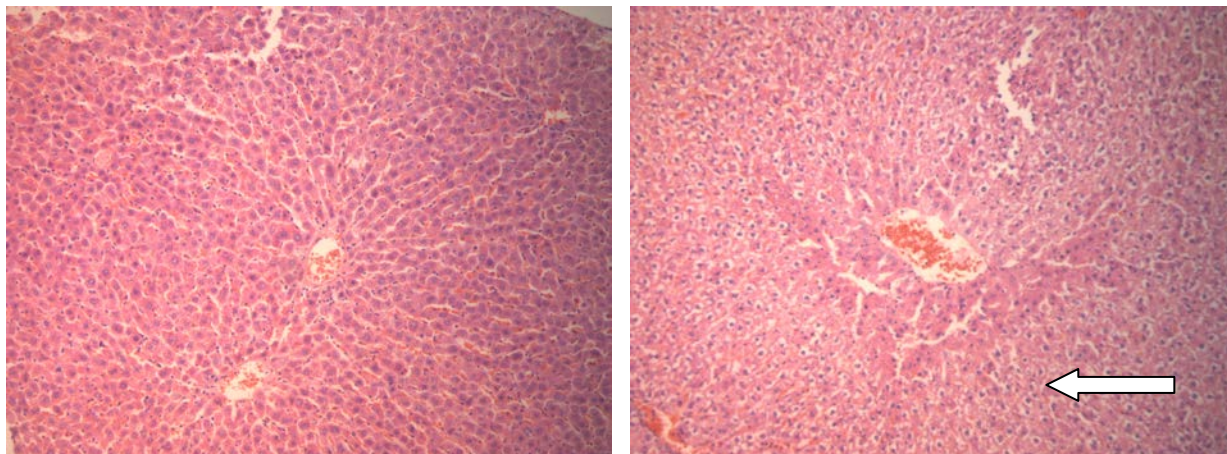


Рис. 1. Печень крысы, получавшей физиологический раствор (слева) Нормальное гистологическое строение ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200.

Рис. 2. Печень крысы, получавшей  $CCl_4$  + физиологический раствор (справа) Дискомплексація балочного строения, умеренно выраженные и выраженные проявления дистрофии гепатоцитов (↑). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200.

Таким образом, двукратное введение  $CCl_4$  в дозе 2000 мг/кг приводило к развитию подострого гепатоза (дистрофии печени), регистрирующегося при исследовании даже через 15 дней после первого введения гепатотропного яда. На данной модели можно адекватно оценивать действие гепатопротекторных средств.

**Влияние полипrenoлов и адеметионина на выживаемость крыс, подвергнутых воздействию  $CCl_4$ .** Полипrenoлы в дозах 2,2-4,3-11,6 мг/кг достоверно не снижали гибель крыс, подвергнутых воздействию  $CCl_4$ . Процент погибших животных в этих группах составлял 42-50%. Гибель крыс приходилась на второй день после инъекции  $CCl_4$ , то есть на 2-й и 5-й день опыта. Адеметионин 300 мг/кг, приготовленный на основе лиофилизата для инъекций, также не снижал процента гибели животных.

**Влияние полипrenoлов и адеметионина на поведение крыс, подвергнутых воздействию  $CCl_4$ .** Двукратное введение  $CCl_4$  (2000 мг/кг) с оценкой поведения через 15 дней после первого введения токсиканта приводило к существенному нарушению поведения крыс в «открытом поле». Так, в группе крыс, получавшей  $CCl_4$ , регистрировали снижение горизонтальной (в 3 раза) и исследовательской (в 2,5 раза) активности, практически подавление груминговых реакций (снижение более чем в 5 раз) и повышение эмоциональности (увеличение болюсов дефекации в 2 раза). Вертикальная активность при этом существенно не менялась.

Полипrenoлы при курсовом введении (14 дней) в целом нормализовали поведение крыс, при этом максимальные их эффекты отмечены при введении



препарата в дозах 2,2 и 4,3 мг/кг, но не 11,6 мг/кг. Именно в этих дозах полипренолы восстанавливали горизонтальную двигательную (пересечение квадратов) и исследовательскую (норковый рефлекс) активность, нормализовали эмоциональность животных. На груминговые реакции полипренолы не влияли. Адеметионин 300 мг/кг практически не менял ни одного из исследованных показателей.

Таким образом, полипренолы, в отличие от адеметионина, оказывают восстанавливающее (нормализующее) действие на поведение в открытом поле крыс, подвергнутых воздействию  $CCl_4$ . При этом максимальный эффект оказывали малые (2,2 мг/кг) и средние (4,3 мг/кг) дозы полипренолов.

$CCl_4$  (2000 мг/кг) нарушал поведение крыс в приподнятом крестообразном лабиринте через 14 дней после первого введения токсиканта. У крыс, получавших  $CCl_4$ , время пребывания в освещенных (открытых) рукавах лабиринта снижалось в 2,5 раза, число выглядываний из закрытых рукавов – в 4 раза, а число свешиваний с открытых рукавов платформы – в 10 раз. Это указывает на мощное анксиогенное действие токсиканта. В данном тесте ни полипренолы (2,2-4,3-11,6 мг/кг), ни адеметионин в исследуемых дозах не проявляли значимого анксиолитического (противотревожного) действия.

Следующим поведенческим тестом было изучение агрессии в тесте «чужак-резидент» у крыс. Двукратное введение  $CCl_4$  (2000 мг/кг) с оценкой поведения через 15 дней после первого введения токсиканта вдвое снижало общительность крыс с умеренным растормаживанием системы «агрессия-защита» в тесте «чужак-резидент». Индивидуальное поведение животных при этом не менялось. Полипренолы (2,2-4,3-11,6 мг/кг) при курсовом введении в течение 14 дней нормализовали показатели коммуникативности и индивидуального поведения, а также снижали повышенную агрессивность с компенсацией системы защиты. Адеметионин также восстанавливал общительность, умеренно снижал агрессивность и полностью подавлял систему защиты. Следовательно, ропрен и адеметионин в тесте «чужак-резидент» проявляют умеренное антиагрессивное действие, при этом полипренолы по эффективности превышают адеметионин, включая высокую степень защиты (защитного поведения), а адеметионин подавлял этот показатель поведения.

Последним поведенческим тестом был плавательный тест Порсолта. Двукратное введение  $CCl_4$  (2000 мг/кг) с оценкой поведения через 14 дней после первого введения токсиканта в 4 раза подавляло активное поведение, умеренно снижало пассивное поведение и вдвое повышало иммобилизацию крыс. Последний показатель (обездвиженность, или иммобилизация) является основным показателем теста и в данном случае указывает на появление у отравленных крыс типичного депрессантного поведения. Полипренолы во всех исследованных дозах (2,2-4,3-11,6 мг/кг) практически не меняли активного и пассивного плавания крыс, но восстанавливали иммобилизационное поведение вплоть до контрольного уровня. Адеметионин 300 мг/кг усиливал обездвиживающее действие  $CCl_4$ , не влияя на другие показатели теста Порсолта. Следовательно, полипренолы в дозах

2,2-4,3-11,6 мг/кг проявляют определенный антагонизм по отношению к  $\text{CCl}_4$  в плавательном тесте Порсолта. Адеметионин подобным действием не обладает, усиливая действие четыреххлористого углерода в тесте Порсолта.

**Влияние полипrenoлов и адеметионина на биохимические показатели крови крыс, подвергнутых воздействию  $\text{CCl}_4$ .** Результаты биохимических тестов показали, что по таким показателям как холестерин, креатинин и мочеви́на исследованные группы крыс не отличались, что указывает на отсутствие влияния  $\text{CCl}_4$  и исследованных соединений (полипrenoлов и адеметионина) на метаболизм данных биологических субстратов. При этом выявлено умеренное снижение среднего показателя по общему белку в группе животных, которые подвергались воздействию  $\text{CCl}_4$  и получали полипrenoлы в дозе 2,2 мг/кг ( $p < 0,05$ ). По-видимому, полипrenoлы в этой дозе на фоне действия  $\text{CCl}_4$  усиливали метаболизм белка в данной группе животных.

Достоверное повышение уровня глюкозы в группе животных, которые получали физиологический раствор и  $\text{CCl}_4$ , свидетельствует о неспецифическом влиянии  $\text{CCl}_4$  на метаболизм полисахаридов, либо за счёт нарушения функции печеночной паренхимы, либо вследствие функциональных нарушений со стороны поджелудочной железы, о чём свидетельствует достоверное повышение уровня  $\alpha$ -амилазы в данной группе крыс ( $p < 0,05$ ).

Значительное повышение уровня лактатдегидрогеназы у крыс, которые получали полипrenoлы и адеметионин, свидетельствует об индукции синтеза данного фермента в печеночной паренхиме указанными препаратами (возможно, не только в печени, но и других внутренних органах и мышцах). Снижение уровня билирубина в группах животных, подвергшихся воздействию  $\text{CCl}_4$ , может указывать на изменение уровня хилезности сыворотки или степени эмульгации предшественников билирубина под влиянием  $\text{CCl}_4$ . Значительное повышение уровня аспартатаминотрансферазы (АСТ) в эксперименте свидетельствует о повреждающем влиянии  $\text{CCl}_4$  на печеночную паренхиму, однако, уровень аспартатаминотрансферазы в группе животных с максимально полученной дозой полипrenoлов (11,6 мг/кг), который не отличался от контрольных величин (интактный контроль), свидетельствует о выраженных гепатопротекторных свойствах данного вещества.

Кроме того, отмечено нормализующее действие полипrenoлов (2,2-4,3 мг/кг) и адеметионина (300 мг/кг) на активность  $\gamma$ -глутамилтрансферазы, одного из основных маркеров поражения печени. Под влиянием адеметионина более чем в 3 раза возрастал уровень непрямого билирубина, что может указывать на нарушение им эвакуационной функции желчевыводящей системы.

Таким образом, полученные результаты биохимического анализа указывают, что полипrenoлы во всех дозах, но особенно в дозе 11,6 мг/кг и адеметионин в дозе 300 мг/кг обладают выраженными гепатопротекторными свойствами.

**Влияние полипrenoлов и адеметионина на морфологическую картину печени на модели подострого гепатоза, вызванного  $\text{CCl}_4$  у крыс.** Введение полипrenoлов зависимо от дозы (2,2-4,3-11,6 мг/кг) защищало пе-

чень от токсического действия гепатотропного яда  $\text{CCl}_4$ . Так, в группе крыс, получавших  $\text{CCl}_4$  + полипренолы 2,2 мг/кг (группа 3), в печени на фоне нарушения балочного строения имелась паренхиматозная дистрофия в виде белковой гиалиново-капельной формы, которая поражала гепатоциты всех печеночных долек на 2/3 их протяженности балок, местами захватывала дольки очагово в виде мелкокапельной жировой дистрофии, локализовалась перипортально, некроз гепатоцитов не наблюдался. В трактах определялась слабо выраженная мононуклеарная инфильтрация. В соответствие с балльной оценкой степени патогистологических изменений можно было констатировать 3-бальное поражение печени крыс данной группы – гистологические изменения соответствовали картине выраженной токсической паренхиматозной дистрофии печени. В группе крыс, получавших  $\text{CCl}_4$  + полипренолы 4,3 мг/кг в печени еще не наблюдалось долек, имевших нормальное гистологическое строение. Дискомплексация балочного строения, сопровождавшаяся дистрофическими изменениями в виде белковой гиалиново-капельной и мелкокапельной жировой дистрофии, захватывала 1/2 – 3/4 протяженности гепатоцитов в дольках. Некроз гепатоцитов отсутствовал, лимфоидная инфильтрация портальных трактов носила слабо выраженный характер. Эти изменения соответствовали 2–3 бальному поражению печени и картине умеренной и выраженной паренхиматозной токсической дистрофии печени. В группе крыс, получавших  $\text{CCl}_4$  + полипренолы 11,6 мг/кг, в печени также не наблюдалось долек, имевших нормальное гистологическое строение. Дискомплексация балочного строения, сопровождавшаяся белковой гиалиново-капельной и мелкокапельной жировой дистрофией, захватывала 1/3 – 1/2 протяженности гепатоцитов в дольках. Некроз гепатоцитов отсутствовал, лимфоидная инфильтрация портальных трактов носила слабо выраженный характер. Эти изменения соответствовали 2-бальному поражению печени и картине умеренно выраженной паренхиматозной токсической дистрофии печени (рис. 3).

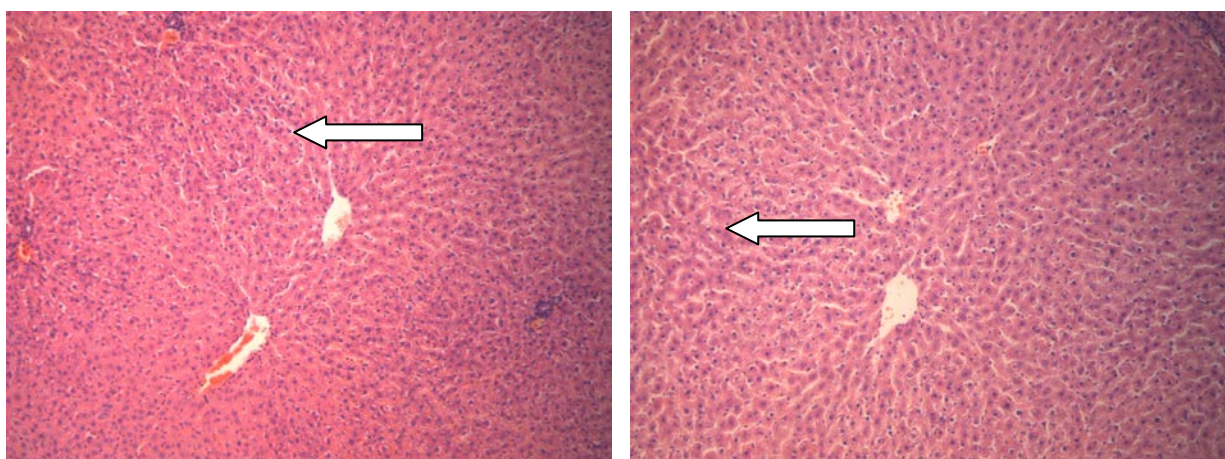


Рис. 3. Печень крысы, получавшей  $\text{CCl}_4$  + полипренолы 11,6 мг/кг (слева) Дискомплексация балочного строения, умеренные проявления дистрофии гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200.

Рис. 4. Печень крысы, получавшей  $CCl_4$  + адеметионин 300 мг/кг (справа) Дисконкомплексация балочного строения, слабо выраженные проявления дистрофии гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200.

И, наконец, в группе крыс, получавших  $CCl_4$  + адеметионин 300 мг/кг, в печени регистрировали слабо выраженное поражение долек. В дольках наблюдалась дисконкомплексация балочного строения, сопровождавшаяся белковой гиалиново-капельной дистрофией на 1/3 протяженности гепатоцитов балок, в одном случае на 2/3 протяженности. Некроз гепатоцитов отсутствовал, лимфоидная инфильтрация портальных трактов носила слабо выраженный характер. Эти изменения соответствовали слабо выраженной паренхиматозной токсической дистрофии печени и преимущественно 1-бальному поражению печени (рис. 4).

Таким образом, после двукратного введения  $CCl_4$  (2000 мг/кг) в печени крыс наблюдали морфологическую картину умеренной и выраженной белковой и жировой паренхиматозной дистрофии печени (гепатоза). В группе крыс, подвергшихся введению гепатопротекторов (полипренолов и адеметионина), морфологическая картина умеренной и выраженной белковой и жировой паренхиматозной дистрофии печени уменьшалась (улучшалась). При этом наименьшие проявления паренхиматозной дистрофии выявлены в группе крыс, подвергшихся введению адеметионина и полипренолов в дозе 11,6 мг/кг, что указывает на их гепатопротекторный эффект.

**Влияние полипренолов и адеметионина на обмен моноаминов в структурах мозга крыс, подвергнутых воздействию  $CCl_4$ .** Посылкой настоящего исследования явилось допущение, что при экспериментальном подостром гепатозе, вызванном  $CCl_4$ , может развиваться токсическая энцефалопатия, приводящая к изменению обмена биогенных аминов в головном мозге. С этой целью с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией анализировали обмен моноаминов в 3 структурах мозга, имеющих самое непосредственное отношение к двигательной (стриатум), эмоциональной (прилежащее ядро) и когнитивной (кора головного мозга) активности.

Схема метаболизма дофамина: дофамин (ДА) → 3-метокситриптамиин (3-МТ) → 3,4-дигидроксифенилуксусная кислота (ДОФУК) → гомованилиновая кислота (ГВК).

Схема метаболизма серотонина: серотонин (СЕР) → 5-гидрокси-3-индолуксусная кислота (5-ГИУК).

Анализ показал, что введение  $CCl_4$  и исследуемых препаратов (полипренолов и адеметионина) существенно не влияло на уровень медиаторов норадреналина, серотонина, а также 5-гидроксиуксусной кислоты (5-ГИУК) в прилежащем ядре, стриатуме и фронтальной коре, но меняло их обмен (метаболизм). В частности, однофакторный дисперсионный анализ показал различия в уровне гомованилиновой кислоты (ГВК) и отношения ГВК/ДА в прилежащем ядре между экспериментальными группами (группы 3 и 4,

$p=0,0009$  и  $p=0,0457$ , соответственно). Так, введение  $CCl_4$  умеренно снижало уровень ГВК. Полипrenoлы в дозах 2,2 и 4,3 мг/кг достоверно (приблизительно в 2 раза) увеличивали содержание ГВК в прилежащем ядре по сравнению с обеими контрольными группами (то есть, между группами 3 и 4 и группой 1,  $p < 0,01$ , а также группой 2,  $p < 0,05$  соответственно). Более наглядно это представлено на рис. 5.

Однофакторный дисперсионный анализ показал также различия в уровне ДОФУК и отношении ГВК/ДА в стриатуме между экспериментальными группами (группы 3 и 4 и группами 1 и 2,  $p=0,0412$  и  $p=0,0390$ , соответственно). Полипrenoлы в дозах 2,2 и 4,3 мг/кг снижали содержание ДОФУК в стриатуме по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

### DA ACB

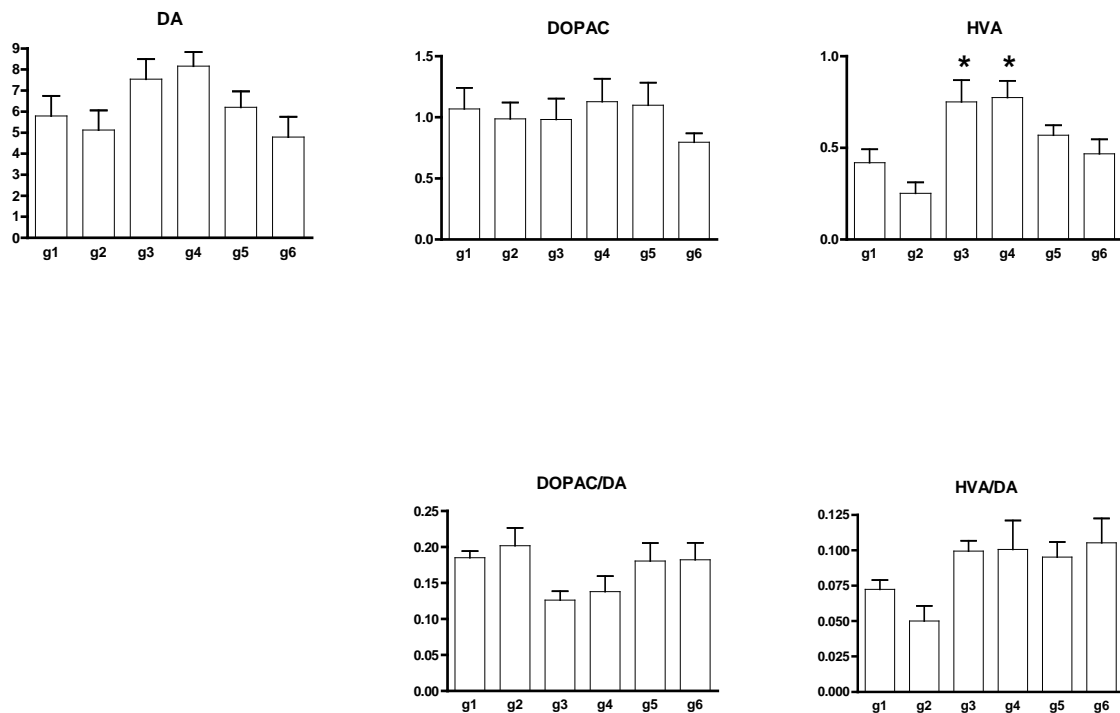


Рис. 5. Показатели обмена дофамина в прилежащем ядре крыс  
По оси ординат – уровень медиатора или метаболита (нмоль/г ткани); по оси абсцисс (латинскими буквами) – номер экспериментальной группы

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о разнонаправленном влиянии полипrenoлов на уровень ГВК и ДОФУК в прилежащем ядре и стриатуме соответственно, что в свою очередь может указывать на активацию мезолимбической дофаминергической системы (ответственна за подкрепление) и снижение активности нигростриатной дофаминергической системы (ответственна за двигательную активность). Однако, учитывая общую тенденцию к снижению отношения ДОФУК/ДА и увеличению отноше-

ния ГВК/ДА в обеих исследованных структурах можно думать об ускоренном обмене ДА в мозге под влиянием полипренолов, поскольку ДОФУК является промежуточным метаболитом ДА по отношению к ГВК, и/или смещению метаболизма ДА в сторону КОМТ-зависимого пути. Таким действием обладают некоторые нейролептики (включая атипичные), проявляющие свойства антагонистов рецепторов дофамина.

В то же время следует отметить, что адеметионин никаким образом не влиял на обмен ДА и норадреналина в головном мозге, но несколько ускорял обмен серотонина во фронтальной коре, умеренно повышая в ней уровень 5-ГИУК. Прежде всего, с помощью однофакторного дисперсионного анализа были найдены различия в индексе активности серотонинергической системы 5-ГИУК/СЕР во фронтальной коре между экспериментальными группами (группами 6 и 2,  $p=0,0157$ ). При этом адеметионин достоверно ( $p < 0,05$ ) увеличивал соотношение 5-ГИУК/СЕР по сравнению с группами, получавшими  $CCl_4$ , а полипренолы в исследуемых дозах лишь проявили тенденцию к повышению данного соотношения. Это может свидетельствовать о нормализующем влиянии обоих исследованных препаратов (адеметионина и полипренолов) на активность серотонинергической системы во фронтальной коре. Подобный эффект отмечен и в работе (Ротенко А.А. и др., 2006), когда при хроническом гепатозе, вызванном  $CCl_4$ , авторы регистрировали повышение уровня серотонина в целом мозге крыс.

Следовательно, можно заключить, что полипренолы помимо гепатопротекторных свойств, обладает выраженным центральным действием, которое заключается в умеренной психоактивации, главным образом за счет изменения активности дофаминергических систем мозга.

### **Заключение**

Изучение влияния разных концентраций полипренолов на поведение интактных крыс показало, что они зависимо от дозы (4,3-8,6-13,4 мг/кг) при курсовом введении (5-7 дней) активируют горизонтальную двигательную активность при умеренном снижении всех других поведенческих паттернов (прежде всего, исследовательской активности и эмоциональности), не вызывают стереотипии, проявляют умеренную анксиогенную (тревожную) активность, подавляют индивидуальное поведение и общительность (коммуникативность) крыс, не оказывают антиагрессивного действия и вызывают умеренный депрессантный эффект в тесте Порсолта. На системы внутримозгового подкрепления полипренолы действуют двухфазно, на первом этапе подавляя их и активируя при последующих введениях, что указывает на вовлечение дофаминергической системы мозга в эффекты полипренолов.

При оценке гепатопротекторного и нейропротекторного действия полипренолов в модели подострого гепатоза, вызванного  $CCl_4$  у крыс, полипренолы (2,2-4,3-11,6 мг/кг, 15 дней) восстанавливали нарушенное токсикантом поведение, нормализовали биохимические показатели крови, морфологию печени и обмен моноаминов в головном мозге. Препарат сравнения адеметионин совпадал с действием полипренолов лишь в части эффектов.

Таким образом, сделан вывод, что полипrenoлы могут быть отнесены к перспективным современным средствам с выраженным центральным психоактивирующим действием и способностью защищать печень и другие внутренние органы от действия токсикантов типа четыреххлористого углерода.

## ВЫВОДЫ

1. Полипrenoлы в дозах 4,3-8,6-13,4 мг/кг при их курсовом введении (5-7 дней) активируют горизонтальную двигательную активность при умеренном снижении всех других поведенческих паттернов (прежде всего, исследовательской активности и эмоциональности), мало влияют на тревожность, подавляют индивидуальное поведение и общительность (коммуникативность) животных, не выявляют антиагрессивного действия и оказывают умеренный депрессантный эффект на поведение.

2. Действие полипrenoлов на реакцию самостимуляции в камере Скиннера зависит от продолжительности их введения. В первые дни введения они умеренно подавляют реакцию самостимуляции, затем эффект сменяется на умеренный психоактивирующий, который по мере введения препарата снижается. Кроме того, полипrenoлы не проявляют функционального антагонизма с психостимулятором фенамином, и на фоне их введения фенамин в полной мере развертывал свой психоактивирующий эффект.

3. Экспериментальный подострый гепатоз, вызванный  $CCl_4$ , является удобной моделью для оценки как гепатопротекторных, так и нейропротекторных свойств, поскольку  $CCl_4$  поражает печень и вызывает экспериментальную энцефалопатию у крыс.

4. В поведенческих тестах ропрен в дозах 2,2-4,3-11,6 мг/кг оказывает нормализующее действие на двигательную и исследовательскую активность, а также эмоциональность крыс, нарушенную  $CCl_4$ . Адеметионин 300 мг/кг такого действия не оказывает.

5. Полипrenoлы и адеметионин проявляют умеренное антиагрессивное действие, при этом полипrenoлы по эффективности превышают адеметионин, включая высокую степень защиты (защитного поведения), в то время как адеметионин подавляет этот показатель поведения.

6. Полипrenoлы в дозах 2,2-4,3-11,6 мг/кг нормализуют большинство показателей крови, нарушенных введением токсиканта  $CCl_4$ . Адеметионин умеренно нарушает эвакуаторную функцию печени, о чем свидетельствует повышение в крови непрямого билирубина.

7. Гепатопротекторное действие полипrenoлов 2,2-4,3-11,6 мг/кг и адеметионина 300 мг/кг заключается в нормализации морфологического повреждения печени при экспериментальном гепатозе (белковой и жировой дистрофии), вызванном  $CCl_4$ . Максимальный гепатопротекторный эффект регистрируется при введении полипrenoлов в дозе 11,6 мг/кг и адеметионина в дозе 300 мг/кг.

8. Полипrenoлы в дозах 2,2-4,3-11,6 мг/кг оказывают выраженный нейропротекторный эффект, в основе которого лежит их способность повышать активность мезолимбической (прилежащее ядро) и нигростриатной

(стриатум) дофаминергических систем в модели подострого гепатоза и токсической энцефалопатии у крыс. Адемeтионин таким действием не обладает.

### НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные данные позволяют использовать полипренолсодержащие препараты (ропрен) не только в качестве гепатопротекторов, но и для защиты других внутренних органов (поджелудочная железа, миокард, почки) от действия токсикантов.

В малых дозах (2,2-4,3 мг/кг) полипренолы обладают выраженным нейропротекторным действием, что не свойственно другим гепатопротекторам, например, адемeтионину или препаратам расторопши.

Способность полипренолов нормализовать обмен моноаминов (дофамина и серотонина) в головном мозге может лежать в основе других их центральных эффектов, прежде всего, антидепрессантной активности.

### Список основных работ по теме диссертации

1. Шабанов П.Д. Нейрохимическая организация подкрепляющих систем мозга / П.Д.Шабанов, А.Д.Ноздрачев, А.А.Лебедев, В.А.Лебедев // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т.86, №8. – С.935-945.
2. Шабанов П.Д. Токсический подострый гепатоз с энцефалопатией у крыс: оценка защитных эффектов ропрена / П.Д.Шабанов, В.С.Султанов, В.И.Рощин, В.А.Лебедев // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2010. – Т.8, №1. – С.78.
3. Шабанов П.Д. Эффекты полипренольного препарата ропрен при токсическом поражении печени и головного мозга у крыс: изучение функционального состояния печени, поведения и метаболизма моноаминов в мозге / П.Д.Шабанов, В.С.Султанов, В.А.Лебедев и др. // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2010. – Т.8, №3. – С.8-31.
4. Шабанов П.Д. Эффекты полипренолов (ропрена) при токсическом гепатите и энцефалопатии / П.Д.Шабанов, В.С.Султанов, В.А.Лебедев, А.А.Байрамов // Актуальные проблемы химии природных соединений. Сб. тез. – Ташкент, 2010. – С.81.
5. Шабанов П.Д. Влияние полипренольного препарата ропрена на дофамин-зависимые формы поведения крыс / П.Д.Шабанов, В.С.Султанов, В.А.Лебедев, А.А.Лебедев // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2010. – Т.8, №4. – С.15-33.
6. Shabanov P.D. Ropren, a polyprenol-containing drug, defends the liver and the brain in a rat model of subacute hepatitis with encephalopathy / P.D.Shabanov, V.S.Soultanov, V.A.Lebedev // New technologies in medicine and experimental biology. Int. Sci. Pract. Interdiscipl. Workshop. – Rio-de-Janeiro, Brazil, 2011. – P.39-40.
7. Шабанов П.Д. Оценка анксиолитических и антидепрессантных эффектов полипренолов после витального психогенного стресса у крыс / П.Д.Шабанов, В.С.Султанов, В.А.Лебедев и др. // Инновации в современной фармакологии. Матер. IV съезда фармакологов России. – Казань; М.: Фолиум, 2012. – С.198-199.
8. Шабанов П.Д. Поведенческие и морфологические эффекты полипренолов в модели посттравматического стрессового расстройства у крыс / П.Д.Шабанов, Н.С.Бакунина, В.А.Лебедев и др. // Экология здоровья: Сб. тр., посв. 90-летию Н.А. Држевецкой. – Ставрополь, 2013. – С.57-60.



---

Тираж 100 экз.      Подписано в печать \_\_\_\_\_      Формат 60x84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>  
Объем 1,25 п.л.      Заказ №  
Типография СПбГПУ (194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2)