

Роль оксидативного стресса при остром экспериментальном геморрагическом инсульте и терапевтические эффекты Мексидола

© Т.А. ВОРОНИНА, В.А. КРАЙНЕВА, Н.Н. ЗОЛОТОВ, С.О. КОТЕЛЬНИКОВА, Е.А. ВАЛЬДМАН

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии им. В.В. Закусова», Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Изучение роли оксидативного стресса в развитии нарушений, возникающих при геморрагическом инсульте (ГИ), и оценка влияния Мексидола на неврологические и когнитивные нарушения при ГИ с анализом связи лечебных эффектов препарата с его антиоксидантным действием.

Материал и методы. Исследование проводили на половозрелых аутбредных крысах-самцах массой 260–280 г. Модель ГИ создавали путем деструкции мозговой ткани в области *capsula interna* с введением в место повреждения крови. На 1, 7 и 14-е сутки после моделирования ГИ у крыс регистрировали гибель, неврологический дефицит (шкала McGrow, тест с вращающимся стержнем, ТВС), судорожный синдром, нарушение когнитивных функций, параллельно проводили количественный анализ показателей оксидативного стресса с оценкой ТБК-активных (тиобарбитуровая кислота — ТБК) продуктов в плазме крови и гомогенатах коры головного мозга крыс. Мексидол вводили после операции в первые 3 дня в дозе 150 мг/кг внутривенно, затем (с 4-х по 14-е сутки) — 75 мг/кг внутрь.

Результаты. Мексидол у крыс с ГИ достоверно повышает выживаемость, уменьшает выраженность неврологического дефицита по шкале McGrow (маневренные движения, парезы 1–4 конечностей, паралич нижних конечностей, боковое положение), устраняет судорожные приступы, восстанавливает нарушение координации движений (ТВС) и улучшает процессы обучения и памяти. Мексидол нормализует концентрации ТБК-активных продуктов в крови животных и гомогенатах коры головного мозга крыс через 1 и 7 сут после ГИ.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о роли оксидативного стресса в развитии нарушений при ГИ и способности Мексидола ослаблять неврологический дефицит, судорожные проявления и когнитивные нарушения при ГИ, что ограничивает проявления оксидативного стресса. Все это обосновывает значимость применения Мексидола у больных с ГИ и определяет особенности его терапевтических эффектов.

Ключевые слова: геморрагический инсульт, интрацеребральная гематома, оксидативный стресс, Мексидол, неврологический дефицит, судороги, когнитивные нарушения.

Информация об авторах:

Воронина Т.А. — <https://orcid.org/0000-0001-7065-469X>

Крайнева В.А. — <https://orcid.org/0000-0003-1493-4392>

Золотов Н.Н. — <https://orcid.org/0000-0003-3528-4659>

Автор, ответственный за переписку: Воронина Т.А. — e-mail: voroninata38@gmail.com

Котельникова С.О. — <https://orcid.org/0000-0001-7083-5298>

Вальдман Е.А. — <https://orcid.org/0000-0001-9716-499X>

Как цитировать:

Воронина Т.А., Крайнева В.А., Золотов Н.Н., Котельникова С.О., Вальдман Е.А. Роль оксидативного стресса при остром экспериментальном геморрагическом инсульте и терапевтические эффекты Мексидола. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2022;122(8 вып. 2):65–71. <https://doi.org/10.17116/jnevro202212208265>

The role of oxidative stress in hemorrhagic stroke and restorative effects of Mexidol

© Т.А. VORONINA, V.A. KRAINEVA, N.N. ZOLOTOV, S.O. KOTEL'NIKOVA, E.A. VAL'DMAN

Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia

Abstract

Objective. Identification of the role of oxidative stress in the development of disorders that occur in hemorrhagic stroke (HS, post-traumatic intracerebral hematoma), and the study of the effects of Mexidol on neurological and cognitive deficits in HS with an analysis of the relationship between the therapeutic effects of the drug in HS with its antioxidant effect.

Material and methods. The study was carried out on mature outbred male rats weighing 260–280 g. HS was created by destruction of the brain tissue in the area of the *capsula interna*, with the introduction of blood into the site of injury. On the 1st, 7th, and 14th days after HS modeling, death, neurological deficits (McGrow scale, rotating rod), convulsive manifestations, and cognitive impairment were recorded in rats; blood plasma and homogenates of the cerebral cortex of rats. Mexidol was administered after the HS operation: first at a dose of 150 mg/kg, intraperitoneally, for 3 days and then 75 mg/kg, orally (from the 4th to the 14th day).

Results. Mexidol in rats with HS significantly increases the survival rate of animals, reduces the manifestations of neurological deficits according to the McGrow scale (playpen movements, paresis of 1–4 limbs, paralysis of the lower limbs, lateral position),

eliminates individual motor convulsive manifestations, restores impaired coordination of movements (rotating rod test) and improves, impaired HS, learning and memory processes. Mexidol normalizes the concentration of TBA-active products in the blood of animals and homogenates of the cerebral cortex of rats, both a day and 7 days after HS modeling.

Conclusion. The data obtained indicate the involvement of oxidative stress as a chain of pathogenesis in the development of disorders in HS and the ability of Mexidol to alleviate neurological deficits, convulsive manifestations and cognitive impairment in HS, which is accompanied by a decrease in oxidative stress. All this justifies the importance of the use of Mexidol in patients with hemorrhagic stroke, posttraumatic intracerebral hematoma and determines the features of its therapeutic effects.

Keywords: hemorrhagic stroke, intracerebral hematoma, oxidative stress, Mexidol, neurological deficit, seizures, cognitive impairment.

Information about the authors:

Voronina T.A. — <https://orcid.org/0000-0001-7065-469X>

Kraïneva V.A. — <https://orcid.org/0000-0003-1493-4392>

Zolotov N.N. — <https://orcid.org/0000-0003-3528-4659>

Corresponding author: Voronina T.A. — e-mail: voroninata38@gmail.com

Kotel'nikova S.O. — <https://orcid.org/0000-0001-7083-5298>

Val'dman E.A. — <https://orcid.org/0000-0001-9716-499X>

To cite this article:

Voronina TA, Kraïneva VA, Zolotov NN, Kotel'nikova SO, Val'dman EA. The role of oxidative stress in hemorrhagic stroke and restorative effects of Mexidol. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry = Zhurnal nevrologii i psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2022;122(8 vyp 2):65–71. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro202212208265>

По данным Всемирной организации здравоохранения, инсульт остается второй по частоте причиной смертности во всем мире [1]. Ежегодно приблизительно у 15 млн человек развивается инсульт, около 6 млн из них умирают, а у 5 млн сохраняется выраженный неврологический дефицит [2]. В России распространенность заболевания схожа с общемировыми тенденциями, по данным эпидемиологических исследований, ежегодно регистрируется 450–500 тыс случаев инсульта [3–5]. В последние годы в связи с пандемией COVID-19 показатели заболеваемости и смертности от инсульта существенно увеличились [6].

Геморрагический инсульт (ГИ) по распространенности занимает 2-е место среди других инсультов. ГИ является самой тяжелой формой инсульта, на его долю приходится 15–20% всех инсультов, смертность от внутримозговых кровоизлияний уже в первые 30 сут достигает 35–50%, и только 10% больных остаются независимыми в повседневной жизни к концу 1-го месяца [7]. Субарахноидальные кровоизлияния составляют 25% всех ГИ, а кровоизлияния в мозг — 75%, последние в свою очередь подразделяются на латеральные — снаружи и медиальные — внутри от внутренней капсулы. Основные причины ГИ — гипертоническая болезнь, атеросклероз сосудов мозга, болезни крови, артерииты, аномалии развития сосудов (аневризмы, мальформации), коагулопатии, опухоли мозга. При ГИ кровь попадает в ткань мозга из-за разрыва сосуда либо просачивается через его стенки. Клинические проявления ГИ зависят от локализации очага, а также обусловлены повышением внутричерепного давления, отеком и сдавлением мозга. Нарастающий отек мозга является основной причиной смерти при ГИ.

При ГИ многие патогенетические механизмы аналогичны тем, которые наблюдаются при ишемическом инсульте (ИИ) [8, 9]. При ГИ контакт крови с тканью мозга ведет к прогрессированию отека-набухания головного мозга, явления ишемии носят диффузный, распространенный, прогрессирующий характер, что и определяет большую летальность при ГИ. Каскад биохимических процессов, приводящий к разрушению клеток, обычно начинается с дефицита восполнения необходимых метаболических субстратов (кислорода и глюкозы), возникают энергетический дефицит, уменьшение продукции АТФ, снижение нейронального мем-

бранного потенциала (первые 3–10 мин после наступления ишемии), которые запускают последующий каскад событий с вовлечением возбуждающих нейромедиаторов (массивный выброс глутамата и аспартата, активация глутаматных рецепторов и развитие глутаматной эксайтотоксичности). Затем происходит открытие кальциевых каналов и шоковое увеличение внутриклеточной концентрации кальция, снижение способности митохондрий продуцировать АТФ, нарушение АТФ-зависимых процессов, увеличение содержания свободных радикалов и инициация перекисного окисления липидов (ПОЛ) мембран, изменение их вязкости, активация кальцийзависимых протеаз и липаз. Образование активных форм кислорода вызывает иммунный ответ в виде асептической нейровоспалительной реакции. Эти процессы приводят к набуханию нервных клеток, разрушению органелл, ломкости внешних мембран и гибели клетки.

Терапевтическая стратегия при ИИ определяется патогенезом заболевания и включает патогенетическую и симптоматическую терапию, воздействующую на различные ключевые звенья ишемического каскада [10–12]. Терапия при ГИ включает коррекцию гемостаза, применение диуретиков, уменьшение отека мозга, коррекцию артериального давления, нейропротекторы. Используют нейротрофические средства, ноотропы, противоэпилептические препараты. Особое место среди терапевтических средств, применяемых при ИИ, хронической ишемии мозга (ХИМ) и ГИ, занимают препараты-нейропротекторы, которые воздействуют на ключевые патогенетические звенья процесса гибели клетки, прежде всего на глутаматную эксайтотоксичность и оксидативный стресс [11–16].

Нейропротективным препаратом с мультимодальным механизмом действия является Мексидол, обладающий широким спектром фармакологических эффектов (нейропротективный, противогипоксический, противоишемический, прокогнитивный, анксиолитический, антиоксидантный, противосудорожный и др.) [17–21]. Мексидол обладает выраженной антиоксидантной активностью, о чем свидетельствует его способность подавлять НАДФН₂-зависимое (ферментативное), железоиндуцируемое и аскорбатзависимое (неферментативное) ПОЛ, повышать активность Se-зависимой глутатионпероксидазы, снижать активность индуци-

бельной NO-синтазы, связывать супероксидный анион-радикал [20, 21]. Мексидол широко и с успехом применяется при лечении ХИМ, ИИ и ГИ [22—25].

Результаты недавнего международного многоцентрового рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования свидетельствуют о высокой клинической эффективности длительной последовательной терапии препаратами Мексидол и Мексидол ФОРТЕ 250 у пациентов с ХИМ и о безопасности этой терапии, сопоставимой с плацебо, в связи с чем Мексидол рекомендован для применения в практике для лечения пациентов с ХИМ в качестве средства патогенетической терапии когнитивных, эмоциональных, вегетативных и двигательных нарушений [25]. Мексидол включен в Федеральный стандарт специализированной медицинской помощи при инфаркте мозга [26] и Клинические рекомендации «Ишемический инсульт и транзиторная ишемическая атака у взрослых» 2021 г. [27]. Эффекты и механизм действия Мексидола при ГИ изучены в меньшей степени, чем при ХИМ и ИИ. В частности, в экспериментальном исследовании на модели ГИ (интрацеребральной посттравматической гематомы) у крыс выявлено позитивное влияние Мексидола на неврологический статус и память в первые 7 сут после ГИ [28].

Цель исследования — выявление роли оксидативного стресса в развитии нарушений, возникающих при ГИ, изучение эффектов Мексидола при его курсовом применении в остром и восстановительном периодах ГИ с оценкой выживаемости животных, неврологического и когнитивного дефицита, судорожного синдрома и анализ связи лечебных эффектов препарата при ГИ с его антиоксидантным действием.

Материал и методы

Исследование выполнено на половозрелых аутбредных крысах-самцах массой 260—280 г, которые были получены из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Животные содержались в условиях лабораторного вивария при 12-часовом световом режиме со свободным доступом к воде и стандартному корму в соответствии с ГОСТ 33216-2014 и 33215-2014. Организация и проведение экспериментальных работ осуществлялись в соответствии с нормативами международных рекомендаций (Директива 2010/63 EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях, от 22.09.2010). Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» (протокол №1 комиссии по биомедицинской этике от 21.01.2021).

Животные были разделены на четыре группы (по 10—12 в группе): 1-я — интактные крысы; 2-я — ложнооперированные животные (ЛОЖ), которым проводилась только трепанация черепа; 3-я — животные с ГИ; 4-я — животные с ГИ, которым вводили Мексидол. Динамику развития нарушений, вызванных гематомой, и оценку влияния Мексидола на поведение и состояние крыс проводили в течение 14 сут после операции, с регистрацией показателей поведения на 1, 7 и 14-е сутки после операции. Регистрировались частота гибели животных, неврологический дефицит, судорожные приступы и нарушение когнитивных функций. Параллельно с регистрацией динамики нарушений состояния и поведения крыс при ГИ у отдельных групп, которые также включали интактных и ЛОЖ, крыс после ГИ и крыс с ГИ, получавших Мексидол, проводился количественный

анализ показателей оксидативного стресса с оценкой содержания продуктов, вступающих в реакцию с тиобарбитуровой кислотой (ТБК).

Мексидол вводили в острый период ГИ (внутрибрюшинно, в дозе 150 мг/кг, через 4 ч после моделирования ГИ в 1-е сутки, затем ежедневно еще 2 сут) и в восстановительный период ГИ (внутри, в дозе 75 мг/кг, 1 раз в сутки, 11 сут). Курс лечения составил 14 сут. Контрольным животным по той же схеме вводили дистиллированную воду.

Создание модели ГИ (интрацеребральная гематома) [29, 30]. У крыс, наркотизированных хлоралгидратом (400 мг/кг, в/м), проводили трепанацию черепа и затем при помощи специального устройства (мандрен-нож) в стереотаксической рамке осуществляли деструкцию мозговой ткани в области *capsula interna* по атласу G. Paxinos (координаты H=4 мм, L=3,0 мм, A=1,5 мм от брегмы), с введением через 2—3 мин в место повреждения крови, взятой из-под языка животного (0,02—0,03 мл). Таким способом моделируется локальный аутогеморрагический инсульт в области *capsula interna* (диаметр 2 мм, глубина 3 мм) без существенных повреждений других образований мозга. ЛОЖ под наркозом проводили только скальпирование и трепанацию черепа без деструкции мозговой ткани.

Неврологический дефицит у животных оценивали по модифицированной шкале Stroke-index McGrow (mSI) [31]. Через 1, 7 и 14 сут после ГИ регистрировали количество (%) крыс с легкой симптоматикой (вялость движений, слабость конечностей, тремор, одно- и двусторонний полуптоз/птоз) и с тяжелыми проявлениями неврологических нарушений (манежные движения, парезы 1—4 конечностей, параличи нижних конечностей, боковое положение).

Тест с вращающимся стержнем (ТВС, аппарат Rota Rod для крыс, «UgoBasile», Италия) использовали для оценки нарушения координации движений (моторный дефицит). Установка состоит из вращающегося горизонтального стержня (диаметр 4 см), который разделен на секции дисками (50 см в диаметре) на 5 секторов для индивидуального размещения крыс. Стержень вращается с постоянной скоростью 10 об/мин. На вращающийся горизонтальный стержень помещали крыс и регистрировали количество падений со стержня в течение 120 с.

Оценка условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) использовалась для определения когнитивных функций [29]. Для обучения УРПИ животных помещали в установку Passive avoidance («Lafayette Instrument Co», США), которая состоит из маленькой платформы, расположенной на расстоянии 1 м от пола, освещенной специальной лампой, и темной камеры с электродным полом. Крыс помещали на освещенную платформу перед входом в темную камеру установки хвостом к входному отверстию и регистрировали латентное время захода в темную камеру (ЛП рефлекса). Затем в темной камере крыса через пол получила однократное неизбежное болевое раздражение электрошоком (0,45 мА) продолжительностью 10 с (обучение), после чего выбегала из темной камеры опять на освещенную платформу и оставалась там (пассивное избегание болевого раздражения). Тест на воспроизведение УРПИ осуществляли через 1, 7 и 14 сут после обучения с регистрацией ЛП первого захода крысы в темную опасную камеру и количества животных, не зашедших в темный отсек камеры.

Метод определения продуктов ПОЛ — ТБК-активных продуктов (малоновый диальдегид (МДА)) в плазме крови и гомогенатах коры головного мозга крыс, одним из кото-

рых является МДА, концентрация которого повышается при оксидативном стрессе, основан на взаимодействии с ТБК. К 20 мкл предварительно размороженной плазмы крови добавляли 20 мкл 0,485М соли Мора и инкубировали при 37 °С в течение 30 мин. Затем к образцам добавляли 1060 мкл 0,9% раствора 2-тиобарбитуровой кислоты («Serva», Германия) в 50% уксусной кислоте и инкубировали при 80 °С в течение 60 мин. После охлаждения измеряли оптическую плотность образцов на спектрофотометре DU-50 («Beckman Coulter», США) при 532 нм с длиной пути 10 мм. Расчет количества комплекса с ТБК проводили на основании значения коэффициента молярной экстинкции $\epsilon=1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Все измерения проводили в 2 параллелях. Концентрацию общих липидов в гомогенате мозга определяли с фосфованилиновым реактивом [32] после экстракции смесью метанол—хлороформ (1:2, по объему) по стандартной методике [33].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и критерия Краскела—Уоллиса для выявления межгрупповых различий; критериев Ньюмена—Кейлса и Данна для апостериорных сравнений средних. Кроме того, при анализе достоверности результатов использовали t-критерий Стьюдента и точный критерий Фишера.

Результаты

Изучение динамики выживания крыс показало, что к 14-м суткам наблюдения выжило 90% ложнооперированных животных, а в группе крыс с ГИ — только 40%. Мексидол при курсовом введении существенно увеличивал выживаемость животных после ГИ. На фоне 14-дневного введения Мексидола выжило 70% крыс.

При оценке выраженности неврологического дефицита у животных по шкале mSI установлено, что в группе ЛОЖ процент животных с легкими неврологическими нарушениями (вялость движений, слабость конечностей, односторонний полуптоз) в течение всего времени наблюдения (1—14 сут) составил 20—40, а тяжелые неврологические нарушения у ЛОЖ не наблюдались (табл. 1). У крыс с ГИ, наоборот, у 50—60% отмечались тяжелые неврологические нарушения (манежные движения, парезы, параличи конечностей), а у 40—50% — также судорожные фокальные подергивания. Мексидол значительно снижал количество крыс как с легкими, так и особенно выражено с тяжелыми неврологическими нарушениями, а также устранял фокальные судорожные приступы, возникающие после ГИ.

Оценку нарушения координации движений в ТВС у животных с ГИ проводили через 1, 7 и 14 сут после моделирования ГИ. У крыс с ГИ выраженный моторный дефицит (нарушение координации движений), выявляемый по увеличению количества падений со стержня, наблюдался уже через 1 сут после ГИ, усиливался через 7 сут и уменьшался через 14 сут (табл. 2). Мексидол не оказывал влияния на моторный дефицит, вызванный ГИ при регистрации эффектов через 24 ч после моделирования ГИ, но при курсовом применении ослаблял проявления моторного дефицита, достоверно уменьшая количество падений животных с вращающегося стержня, которые наблюдались через 7 и 14 сут после ГИ.

Таким образом, Мексидол при курсовом применении обладает способностью значительно ослаблять проявления неврологического дефицита у животных с ГИ, что выражается в достоверном уменьшении количества животных с тяжелыми неврологическими нарушениями (манежные

Таблица 1. Влияние применения Мексидола на выраженность неврологического дефицита и судорожные приступы у крыс после ГИ, шкала mSI, %

Table 1. Effect of Mexidol on neurological deficit and convulsive manifestations in rats after hemorrhagic stroke, mSI, %

Группа животных	Время после операции (сут)		
	1-е	7-е	14-е
Животные с легкими нарушениями			
интактные	0	0	0
ЛОЖ	40	30	20
ГИ	50	50	30
ГИ+Мексидол	30	20*	10
Животные с тяжелыми нарушениями			
интактные	0	0	0
ЛОЖ	0	0	0
ГИ	50 [#]	70 [#]	70 [#]
ГИ+Мексидол	20*	30*	20*
Животные с фокальными судорожными приступами			
интактные	0	0	0
ЛОЖ	0	0	0
ГИ	40 [#]	50 [#]	40 [#]
ГИ+Мексидол	20*	20*	10*

Примечание. [#] — отличия достоверны по сравнению с ЛОЖ, $p < 0,05$ (точный критерий Фишера); * — отличия достоверны по сравнению с животными с ГИ, $p < 0,05$ (точный критерий Фишера).

Note. [#] — the differences are significant compared to sham-operated operated animals, $p < 0.05$ (Fisher's exact test); * — the differences are significant compared to rats with HS, $p < 0.05$ (Fisher's exact test).

Таблица 2. Влияние Мексидола на координацию движений крыс с ГИ в ТВС

Table 2. Effect of Mexidol on motor coordination in rats with hemorrhagic stroke in the «rotating rod» test

Группа животных	Количество падений за 2 мин (сут)		
	1-е	7-е	14-е
Интактные	1,02±0,11	0,17±0,06	0,11±0,05
ЛОЖ	1,8±0,51	0,14±0,01	0,6±0,16
ГИ	3,9±0,71 [#]	5,5±1,02 [#]	3,5±1,06 [#]
ГИ+Мексидол	3,1±1,11	2,06±0,34*	1,01±0,13*

Примечание. [#] — отличия достоверны по сравнению с ЛОЖ, $p < 0,05$ (t-критерий Стьюдента); * — отличия достоверны по сравнению с животными с ГИ, $p < 0,05$ (t-критерий Стьюдента).

Note. [#] — the differences are significant compared to sham-operated operated animals, $p < 0.05$ (Student's t-test); * — the differences are significant compared to rats with HS, $p < 0.05$ (Student's t-test).

движения, парезы 1—4 конечностей, параличи задних конечностей), уменьшении выраженности моторного дефицита и восстановлении координации движений в ТВС через 1, 7 и 14 сут после моделирования ГИ.

При изучении когнитивных функций было установлено, что при воспроизведении рефлекса через 24 ч после обучения 100% интактных крыс и 80% ЛОЖ помнили об ударе током, полученном в темной камере (сеанс обучения), и не заходили в эту опасную зону, несмотря на неудобство нахождения на освещенной платформе. Через 14 сут после обучения УРПИ 50% интактных и ЛОЖ помнили о полученном ударе тока и не заходили в опасную камеру (табл. 3). У крыс с ГИ при выполнении УРПИ через 1 сут после обу-

чения наблюдалось снижение ЛП рефлекса захода в опасную камеру и уменьшение количества обучившихся животных до 50% по сравнению с ЛОЖ, а к 14-м суткам почти все животные с ГИ забывали ситуацию и с коротким ЛП заходили в темную камеру; УРПИ сохранялся только у 10% крыс. Полученные данные свидетельствуют о выраженных нарушениях обучения и памяти у крыс с ГИ.

В группе крыс с ГИ, получивших Мексидол, через 24 ч после обучения УРПИ наблюдалось улучшение воспроизведения рефлекса, который был сохранен у 60% крыс (см. табл. 3). Почти все животные воспроизводили УРПИ на протяжении всего времени наблюдения, что выражалось в увеличении ЛП рефлекса и количества животных, не зашедших в темную камеру. При регистрации воспроизведения УРПИ на 7-е и 14-е сутки после обучения после курсового применения Мексидола отмечалось статистически достоверное увеличение количества обучившихся крыс по сравнению с показателями контрольных животных с ГИ и увеличение латентного периода выполнения УРПИ. Таким образом, Мексидол при курсовом применении устраняет когнитивные нарушения после ГИ, что выражается в способности препарата восстанавливать нарушенное после ГИ обучение и воспроизведение УРПИ.

Установлено, что у контрольных интактных крыс через 1 и 7 сут концентрация ТБК-активных продуктов в крови животных и МДА в гомогенатах коры головного мозга крыс существенно не отличались (табл. 4). У крыс с ГИ как через 1 сут, так и через 7 сут после моделирования ГИ наблюдалось статистически достоверное повышение концентрации ТБК-активных продуктов в плазме крови и МДА в гомогенатах коры головного мозга, что свидетельствовало о развитии оксидативного стресса. Применение Мексидола вызывало нормализацию концентрации ТБК-активных продуктов в крови животных и МДА в гомогенатах коры головного мозга крыс через 1 и 7 сут ГИ. Таким образом, установлено, что у животных через 1 и 7 сут после ГИ наблюдается выраженный оксидативный стресс, который характеризуется повышением концентрации ТБК-активных продуктов в плазме крови и МДА в гомогенатах коры головного мозга крыс.

Обсуждение

Совокупность полученных экспериментальных данных свидетельствует о том, что Мексидол при курсовом применении в острый и восстановительный периоды ГИ в различные сроки (1, 7 и 14-е сутки) после моделирования ГИ достоверно повышает выживаемость животных, уменьшает проявления неврологических дефицитов по шкале mSI (манежные движения, парезы 1—4 конечностей, параличи нижних конечностей, боковое положение), устраняет отдельные моторные судорожные проявления, восстанавливает нарушение координации движений (тест вращающегося стержня) и улучшает нарушенные вследствие ГИ процессы обучения и памяти. Наряду с этим Мексидол нормализует концентрации ТБК-активных продуктов в крови и гомогенатах коры головного мозга крыс с ГИ, что свидетельствует о его способности воздействовать на оксидативный стресс как одно из патогенетических звеньев в развитии нарушений при ГИ.

В настоящее время инсульт мозга рассматривается как следствие сложных и длительных процессов, при которых в связи с высокой потребностью тканей мозга в кислороде и глюкозе нарушение перфузии ведет к истощению субстра-

Таблица 3. Влияние Мексидола на выполнение УРПИ после ГИ
Table 3. Effect of Mexidol on reproduction of CRPA after hemorrhagic stroke

Группа животных	ЛП рефлекса (с)	Крысы, не зашедшие в темную камеру (%)
Через 24 ч		
интактные	180,0±0,0	100
ЛОЖ	158,8±14,9	80
ГИ	66,2±18,15*	30*
ГИ+Мексидол	133,7±11,7*	60*
Через 7 сут		
интактные	168,5±11,7	90
ЛОЖ	107,1±24,1	80
ГИ	49,3±18,1#	10#
ГИ+Мексидол	115,8±19,5*	70*
Через 14 сут		
интактные	92,3±20,6	50
ЛОЖ	85,3±14,2	50
ГИ	36,4±11,3#	10#
ГИ+Мексидол	76,7±10,2*	50*

Примечание. # — отличия достоверны по сравнению с ЛОЖ, $p < 0,05$ (t -критерий Стьюдента и точный критерий Фишера); * — отличия достоверны по сравнению с животными с ГИ, $p < 0,05$ (t -критерий Стьюдента и точный критерий Фишера).

Note. # — the differences are significant compared to sham-operated operated and SO animals, $p < 0,05$ (Student's t -test and Fisher's exact test); * — the differences are significant compared to rats with HS, $p < 0,05$ (Student's t -test and Fisher's exact test).

Таблица 4. Влияние применения Мексидола на концентрации ТБК-активных продуктов в крови и МДА в гомогенатах коры мозга крыс через 1 и 7 сут ГИ

Table 4. Effect of Mexidol on the concentrations of TBA-active products in the blood of and MDA in homogenates of the cerebral cortex of rats 1 and 7 days after hemorrhagic stroke

Группа животных	ТБК-активные продукты в плазме крови (мкМ/л)	МДА в гомогенатах мозга (моль/мг липидов)
ЛОЖ через 1 сут	0,09±0,02	1,06±0,1·10 ⁻⁶
ЛОЖ через 7 сут	0,14±0,07	1,12±0,3·10 ⁻⁶
ГИ через 1 сут	1,7±0,21#	2,8±0,2·10 ^{-6#}
ГИ через 7 сут	1,9±0,11#	3,1±0,1·10 ^{-6#}
ГИ+Мексидол через 1 сут	0,15±0,02*	1,5±0,3·10 ^{-6*}
ГИ+Мексидол через 7 сут	0,11±0,09*	1,4±0,2·10 ^{-6*}

Примечание. # — отличия достоверны по сравнению с ЛОЖ, $p < 0,05$ (t -критерий Стьюдента и точный критерий Фишера); * — отличия достоверны по сравнению с животными с ГИ, $p < 0,05$ (критерий Ньюмена—Кейлса).

Note. # — the differences are significant compared to sham-operated operated and SO animals, $p < 0,05$ (Student's t -test and Fisher's exact test); * — the differences are significant compared to rats with HS, $p < 0,05$ (Newman—Keuls criterion).

тов, снижению продукции энергии клетками, нарушению ионных градиентов и снижению мембранного потенциала. При лечении ИИ и ХИМ применяют многофункциональные препараты с мультимодальным механизмом действия, которые на разных уровнях воздействуют на ключевые этапы каскада гипоксии/ишемии и, прежде всего, на эксайтотоксичность, оксидативный стресс и нейровоспаление. Полученные в настоящем исследовании данные подтверждают

наличие у Мексидола антиоксидантных свойств — способность подавлять НАДФН₂-зависимое (ферментативное) железоиндуцируемое и аскорбатзависимое (неферментативное) ПОЛ, повышать активность Se-зависимой глутатионпероксидазы, снижать активность индуцибельной NO-синтазы и связывать супероксидный анион-радикал [20, 21, 34].

Выраженный позитивный эффект Мексидола при гипоксии и ишемии мозга, выявляемый как в эксперименте, так и в клинике, определяется его мультимодальным механизмом действия, способностью воздействия на ключевые звенья патогенеза при ГИ и ИИ, а также при ХИМ. Наряду с антиоксидантным действием Мексидол обладает мембранотропным, энергостабилизирующим действием: улучшает митохондриальное дыхание и энергетический статус клетки, восстанавливает процессы в цикле Кребса, повышая интенсивность окислительного фосфорилирования и синтеза АТФ [35, 36], уменьшает глутаматную эксайтотоксичность [37].

Заключение

Установлено, что Мексидол при курсовом применении (150 мг/кг внутривенно 3 дня и затем 75 мг/кг внутрь с 4-х по 14-е сутки) у крыс в острый и восстановительный периоды ГИ в различные сроки (1, 7 и 14-е сутки) после мо-

делирования ГИ достоверно повышает выживаемость животных, уменьшает проявления неврологического дефицита, устраняет судорожные приступы, восстанавливает координацию движений и улучшает нарушенные ГИ процессы обучения и памяти. Установлено, что через 1 и 7 сут после ГИ в плазме крови и гомогенатах коры головного мозга крыс наблюдается повышение концентрации ГБК-активных продуктов, что свидетельствует о развитии оксидативного стресса. Мексидол при курсовом применении вызывает нормализацию концентрации ГБК-активных продуктов в крови животных и гомогенатах коры головного мозга крыс как через 1, так и через 7 сут после моделирования ГИ. Полученные данные свидетельствуют о вовлечении оксидативного стресса как патогенетического звена в развитие неврологического дефицита и когнитивных нарушений при ГИ и способности Мексидола устранять эти нарушения. Все это обосновывает значимость применения Мексидола у больных с ГИ, паренхиматозным кровоизлиянием и определяет особенности его терапевтических эффектов.

Работа выполнена по теме Гос. задания №122020100281-9.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.**

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. World Health Organization: Top 10 causes of death. *WHO*. 2018. Accessed March 15. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
2. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380(9859):2095-2128. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61728-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61728-0)
3. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Стаховская Л.В. Эпидемиология инсульта в России. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2003;8:4-9.
4. Gusev EI, Skvortsova VI, Stakhovskaia LV. Epidemiology of stroke in Russia. *Zhurnal Nevrologii i Psikhatrii im. S.S. Korsakova*. 2003;8:4-9. (In Russ.).
5. *Инсульт. Руководство для врачей*. Под ред. Стаховской Л.В., Котова С.В. 2-е изд., доп. и перераб. М.: ООО «Медицинское информационное агентство»; 2018.
6. *Stroke. Guide for doctors*. Edited by Stakhovskaya L.V., Kotov S.V. 2-е ed., rev. and extra. М.: ООО «Medical informative agency»; 2018. (In Russ.).
7. *Инсульт: современные технологии диагностики и лечения: Руководство для врачей*. Под ред. Пирадова М.А., Танашиан М.М., Максимовой М.Ю. 3-е изд., доп. и перераб. М.: МЕДпресс-информ; 2018. (In Russ.).
8. Иванаева Г.Е., Мельникова Е.В., Левин О.С. и др. Актуальные вопросы реабилитации пациентов с инсультом на фоне новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Резолюция Совета экспертов. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2020;120(8-2):81-87.
9. Ivanova GE, Melnikova EV, Levin OS, et al. Current issues in the rehabilitation of stroke patients against the background of COVID-19. Resolution of the Council of Experts. *Zhurnal Nevrologii i Psikhatrii im. S.S. Korsakova*. 2020;120(8-2):81-87. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro202012008281>
10. Мачинский П.А., Плотникова Н.А., Ульянкин В.Е. и др. Сравнительная характеристика показателей заболеваемости ишемическим и геморрагическим инсультом в России. *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки*. 2019;50(2):112-132.
11. Machinskiy PA, Plotnikova NA, Ul'yankin VE, et al. Comparative characteristics of the ischemic and hemorrhagic stroke morbidity indicators in Russia. *University proceedings. Volga region. Medical sciences*. 2019;50(2):112-132. (In Russ.). <https://doi.org/10.21685/2072-3032-2019-2-11>
12. Гусев Е.И., Скворцова В.И. *Ишемия головного мозга*. М.: Медицина. 2007.
13. Gusev EI, Skvortsova VI. *Ishemiya golovnoy mozga*. М.: Medicina. 2007. (In Russ.).
14. Saver JL. Time Is Brain — Quantified. *Stroke*. 2006;37(1):263-266. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000196957.55928.ab>
15. Гусев Е.И., Чуканова Е.И., Чуканова А.С. *Хроническая цереброваскулярная недостаточность (факторы риска, патогенез, клиника, лечение)*. М.: АСТ. 2018.
16. Gusev EI, Chukanova EI, Chukanova AS. *Chronic cerebrovascular insufficiency (risk factors, pathogenesis, clinic, treatment)*. М.: AST. 2018. (In Russ.).
17. Федин А.И., Саверская Е.Н., Бадалян К.Р. Мультимодальные терапевтические стратегии в лечении цереброваскулярной болезни. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2021;121(12):112-118.
18. Fedin AI, Saverskaya EN, Badalyan KR. Multimodal therapeutic strategies in the treatment of cerebrovascular disease. *Zhurnal Nevrologii i Psikhatrii im. S.S. Korsakova*. 2021;121(12):112-118. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro202112112112>
19. Liu S, Levine SR, Winn HR. Targeting ischemic penumbra: part I — from pathophysiology to therapeutic strategy. *J. Exp. Stroke Transl. Med*. 2010;3(1):47-55.
20. Боголепова А.Н. Роль оксидативного стресса в развитии сосудистых когнитивных расстройств. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2020;120(8):1-7.
21. Bogolepova AN. The role of oxidative stress in the development of vascular cognitive disorders. *Zhurnal Nevrologii i Psikhatrii im. S.S. Korsakova*. 2020;120(8):1-7. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro2020120081133>
22. Ташанян М.М. *Цереброваскулярная патология и метаболический синдром*. М.: АСТ; 2019.
23. Tashanyan MM. *Cerebrovascular pathology and metabolic syndrome*. М.: AST. 2019. (In Russ.).
24. Yang Q, Huang Q, Hu Z, et al. Potential neuroprotective treatment of stroke: excitotoxicity, oxidative stress, and inflammation. *Front. Neurosci*. 2019;13:1036-1039. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01036>

16. Chamorro Á, Dirnagl U, Urra X, et al. Neuroprotection in acute stroke: Targeting excitotoxicity, oxidative and nitrosative stress, inflammation. *Lancet Neurol.* 2016;15(8):869-881. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00114-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00114-9)
17. Воронина Т.А. Антиоксидант мексидол. Основные нейропсихотропные эффекты и механизм действия. *Психофармакология, биология, наркологию.* 2001;1(1):2-12. Voronina TA. Antioxidant Mexidol. The basic neuropsychotropic effects and mechanism of action. *Psychopharmacol. Biol. Narkol.* 2001;1(1):2-12. (In Russ.).
18. Воронина Т.А. Мексидол. Отечественный препарат нового поколения, основные эффекты, механизм действия, применение. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2003;105(5):34-38. Voronina TA. Mexidol. Domestic drug of a new generation, main effects, mechanism of action, application. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiiatrii im. S.S. Korsakova.* 2003;105(5):34-38. (In Russ.).
19. Воронина Т.А. Мексидол. Основные нейропсихотропные эффекты и механизм действия. *Фарматека.* 2009;180(6):1-4. Voronina TA. Mexidol: main neuropsychotropic effects and mechanisms of action. *Farmateka.* 2009;180(6):1-4. (In Russ.).
20. Воронина Т.А. Пионер антиоксидантной нейропротекции. 20 лет в клинической практике. *Российский медицинский журнал. Неврология.* 2016;7:434-438. Voronina TA. Pioneer antioksidantnoy neyroproteksii. 20 let v klinicheskoy praktike. *Rossiyskiy Meditsinskiy Zhurnal. Nevrologiya.* 2016;7:434-438. (In Russ.).
21. Дюмаев К.М., Воронина Т.А., Смирнов Л.Д. *Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС.* М.: Изд-во Института биомедицинской химии РАН; 1995. [Dumaev KM, Voronina TA, Smirnov LD. *Antioxidants in the prevention and therapy of Central nervous system pathologies.* M.: Publishing House of the Institute of Biomedical Chemistry of the Russian Academy of Sciences; 1995. (In Russ.).
22. Скворцова В.И., Стаховская Л.В., Нарциссов Я.Р. и др. Рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование эффективности и безопасности лекарственного препарата Мексидол в комплексной терапии ишемического инсульта в остром периоде. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2006;106(18):47-54. Skvortsova VI, Stakhovskaya LV, Nartsyssov YaR, et al. The randomized double-blind placebo-controlled study of efficacy and safety of mexidol in the complex therapy of ischemic stroke in the acute period. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova.* 2006;106(18):47-54. (In Russ.).
23. Стаховская Л.В., Шамалов Н.А., Хасанова Д.Р. и др. Результаты рандомизированного двойного слепого мультицентрового плацебо-контролируемого в параллельных группах исследования эффективности и безопасности мексидола при длительной последовательной терапии у пациентов в остром и раннем восстановительном периодах полужарного ишемического инсульта (ЭПИКА). *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2017;117(3-2):55-65. Stakhovskaya LV, Shamalov NA, Khasanova DR, et al. Results of a randomized double blind multicenter placebo-controlled, in parallel groups trial of the efficacy and safety of prolonged therapy with mexidol in the acute and early recovery stages of hemispheric ischemic stroke (EPICA). *Zhurnal Nevrologii i Psikhiiatrii im. S.S. Korsakova.* 2017;117(3-2):55-65. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro20171173255-65>
24. Ковальчук В.В. *Теоретические предпосылки и практические аспекты адекватного ведения и эффективной реабилитации пациентов после инсульта.* М.: АСТ; 2021;345. Kovalchuk VV. *Theoretical prerequisites and practical aspects of adequate management and effective rehabilitation of patients after stroke.* M.: AST; 2021;345. (In Russ.).
25. Федин А.И., Захаров В.В., Ташанян М.М. и др. Результаты международного многоцентрового рандомизированного двойного, слепого плацебо-контролируемого исследования оценки эффективности и безопасности последовательной терапии пациентов с хронической ишемией препаратами мексидол и мексидол ФОРТЕ 250 (исследование MEMO). *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2021;121(11):7-16. Fedin AI, Zakharov VV, Tanashyan MM, et al. Results of an international multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study assessing the efficacy and safety of sequential therapy with Mexidol and Mexidol FORTE 250 in patients with chronic brain ischemia (MEMO). *Zhurnal Nevrologii i Psikhiiatrii im. S.S. Korsakova.* 2021;121(11):7-16. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro2021121117>
26. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 29 декабря 2012 г. № 1740н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при инфаркте мозга». Ссылка активна на 15.03.2022. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated December 29, 2012 № 1740n «On approval of the standard for specialized medical care for cerebral infarction». (In Russ.). Accessed 15.03.2022 <https://www.rosminzdrav.ru/documents/8970>
27. *Клинические рекомендации «Ишемический инсульт и транзиторная ишемическая атака у взрослых», 2021 г.* Clinical recommendations «Ischemic stroke and transient ischemic attack in adults». 2021. (In Russ.). https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/171_2
28. Крайнева В.А. Особенности и механизм нейропротекторного действия препарата «мексидол» при геморрагическом инсульте в эксперименте. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2006;1:40-44. Kraineva VA. The experimental study of peculiarities and mechanism of neuroprotective action of mexidol in hemorrhagic stroke. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2006;1:40-44. (In Russ.).
29. Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия. М.: Гриффик; 2012;1:276-296. Voronina TA, Ostrovskaya RU, Garibova TL. Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Guidelines for the preclinical study of drugs with a nootropic type of action. M: GrifandK; 2012;1:276-296. (In Russ.).
30. Макаренко А.Н., Косинин Н.С., Пасикова Н.В. и др. Метод моделирования локального кровоизлияния в различных структурах головного мозга у экспериментальных животных. *Журнал высшей нервной деятельности.* 2002;52(6):765-768. Makarenko FN, Kositsyn NS, Pasikova NV, et al. Simulation of local cerebral hemorrhage in different brain structures of experimental animals. *Zhurnal Vyssei Nervnoi Deyatelnosti imeni I.P.Pavlova.* 2002;52(6):765-768. (In Russ.).
31. McGrow CP, Pashayan AG, Wendel OT. Cerebral infarction in the Mongolian gerbil exacerbated by phenoxybenzamine treatment. *Stroke.* 1976;7:5:485-8. <https://doi.org/10.1161/01.str.7.5.485>
32. Vatassery GT, Sheridan MA, Krezowski AM, et al. Use of the Sulfo-Phospho-Vanillin Reaction in a Routine Method for Determining Total Lipids in Human Cerebrospinal Fluid. *Clin. Biochem.* 1981;14(1):21-24. [https://doi.org/10.1016/0009-9120\(81\)90120-x](https://doi.org/10.1016/0009-9120(81)90120-x)
33. Bligh EG, Dyer VJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 1959;37(8):911-917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
34. Воронина Т.А. Геропротективные эффекты этилметилгидроксипиридина сукцинат в экспериментальном исследовании. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2020;120(4):81-87. Voronina TA. Geroprotective effects of ethylmethylhydroxypyridine succinate in an experimental study. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiiatrii im. S.S. Korsakova.* 2020;120(4):81-87. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro202012004181>
35. Лукьянова Л.Д. *Сигнальные механизмы гипоксии.* М.: РАН; 2019. Lukyanova LD. *Signaling mechanisms of hypoxia.* M.: RAS; 2019. (In Russ.).
36. Кирова Ю.И., Шакова Ф.М., Германова Э.Л. и др. Влияние мексидола на церебральный митохондриогенез в молодом возрасте и при старении. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2020;120(1):55-61. Kirova YuI, Shakova FM, Germanova EL, et al. The effect of Mexidol on cerebral mitochondriogenesis at a young age and during aging. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiiatrii im. S.S. Korsakova.* 2020;120(1):55-61. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro202012001162>
37. Шулькин А.В. Влияние мексидола на развитие феномена эксайтотоксичности нейронов in vitro. *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова.* 2012;112(2):35-39. Shchul'kin AV. Effect of mexidol on the development of the phenomenon of the neuronal excitotoxicity in vitro. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiiatrii im. S.S. Korsakova.* 2012;112(2):35-39. (In Russ.).

Поступила 04.05.2022

Received 04.05.2022

Принята к печати 06.05.2022

Accepted 06.05.2022