

УДК 615.015.44

ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ЦИНКОВОЙ СОЛИ 2-АМИНОЭТАНСУЛЬФОНОВОЙ КИСЛОТЫ ЛХТ-3-18 В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО КИСЛОРОДНОГО ДЕФИЦИТА *IN VIVO* И *IN VITRO***© Крайнова Ю.С.¹, Блинова Е.В.², Семелева Е.В.¹, Блинов Д.С.³, Юрочкина А.М.³, Туровский Е.А.⁴, Лобанова Е.Г.⁵, Дагар Е.А.¹, Орлов Е.А.², Шукуров А.С.²**¹Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, Россия, 430005, Саранск, ул. Большевикская, 68²Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет) Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр.2³АО «Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ», Россия, 142450, Старая Купавна, ул. Кирова, 23⁴Институт биофизики клетки Российской академии наук, Россия, 142290, Пущино Московской области, ул. Институтская, 3⁵Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Россия, 127473, Москва, ул. Делегатская, 20, Стр. 1*Резюме*

Цель. Изучить эффективность цинковой соли 2-аминоэтансульфоновой кислоты ЛХТ-3-18 у крыс с необратимой перевязкой средней мозговой артерии и влияние вещества на выживаемость различных типов нейронов и клеток астроцитарной глии в смешанной нейроглиальной культуре гиппокампа в условиях глюкозо-кислородной депривации.

Методика. Исследования выполнены на 20 линейных крысах-самцах породы SpragueDawley, и исмешанной нейроглиальной культуре клеток гиппокампа крысят (P1-3) той же линии. Нейропротекторную активность цинковой соли 2-аминоэтансульфоната (ЛХТ-3-18) изучали при внутривенном профилактическом введении на модели перевязки средней мозговой артерии с оценкой неврологического дефицита, объема поражения головного мозга индикаторным методом, уровня глутаминовой кислоты в плазме крови флюориметрическим методом. Влияние вещества на кальциевый ответ глутаматергических и ГАМК-ергических нейронов исследовали при культивировании ЛХТ-3-18 в культуре клеток. Кислородно-глюкозную депривацию (OGD) формировали в среде Хенкса путем замещения глюкозы на эквивалентное количество сахарозы с последующем вытеснении растворенного кислорода. Кислородно-глюкозный дефицит оценивали по амплитуде и характеру Ca^{2+} -сигналов методом внутриклеточного биоимиджинга. Число жизнеспособных и мертвых клеток определяли цитохимически.

Результаты. Внутривенное введение раствора ЛХТ-3-18 в дозах 58 и 29 мг/кг в профилактическом режиме при необратимой окклюзии средней мозговой артерии приводило к формированию более мягкого неврологического дефицита, сокращало объем мозгового некроза, уменьшало плазменный уровень глутаминовой кислоты, оказывало существенное защитное действие на парвальбумин-соединяющие ГАМКергические и глутаматергические нейроны и астроциты в смешанной культуре гиппокампа, снижая OGD-индуцированное увеличение цитозольного кальция и подавляя некротическую гибель клеток.

Заключение. Соль ЛХТ-3-18 обладают выраженными нейропротекторными свойствами, снижает долю погибающих вследствие некроза клеток в смешанной культуре гиппокампа за счет подавления кальций-зависимой эксайтотоксичности.

Ключевые слова: окклюзия средней мозговой артерии, глутаминовая кислота, NMDA-рецепторы, кислородно-глюкозный дефицит

BRAIN-PROTECTIVE ACTIVITY OF LHT-3-18, ZINC-CONTAINING SALT OF 2-AMINO-ETHANESULFONIC ACID IN ACUTE OXYGEN DEPRIVATION *IN VIVO* AND *IN VITRO*
Krainova Yu.S.¹, Blinova E.V.², Semeleva E.V.¹, Blinov D.S.³, Yurochkina A.M.³,
Turovsky E.A.⁴, Lobanova E.G.⁵, Dagar E.A.¹, Orlov E.A.², Shukurov A.S.²

¹National Research Ogarev Mordovia State University, 68, Bolshevitskaja St., 430005, Saransk, Russia

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8/2, Trubetskaya St., 119991, Moscow, Russia

³All-Union Research Center for Biological Active Compounds Safety, 23, Kirova St., 142450, Staraya Kupavna, Russia

⁴Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences, 3, Institutskaja St., Pushchino, 142290, Moscow Region, Russia

⁵A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, 20/1, Delegatskaja St., 127473, Moscow, Russia

Abstract

Objective. To study the effectiveness of zinc salt of 2-aminoethanesulfonate acid LHT-3-18 in rats with irreversible ligation of the middle cerebral artery and the effect on the survival of various types of neurons and astrocytic glia cells in a mixed neuroglial culture of the hippocampus under glucose-oxygen deprivation conditions.

Methods. The studies were performed on 10 white rats of both sexes (5 females and males) and 20 newborn linear Sprague Dawley rats used to prepare a mixed neuroglial culture of hippocampal cells (P1-3). Neuroprotective activity was studied on the model of ligation of the middle cerebral artery with subsequent assessment of neurological deficit, quantitative assessment of the amount of damage to the GM – an indicator method using 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (STHMA-Aldrich, Germany), quantitative determination of glutamic acid in blood plasma and brain homogenate were performed by a fluorimetric method using a Graham and Aprison on an Emilite 1201 photometer (USA). Oxygen-glucose deprivation (OGD) was formed in Hanks' medium by replacing glucose with an equivalent amount of sucrose, followed by displacing dissolved oxygen by purging with argon in a special sealed system. Oxygen-glucose deficiency was assessed by the amplitude and nature of the Ca^{2+} signals. The number of viable and dead cells was determined by staining with propidium iodide (PI, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) under fluorescent red light using the FilterSet 49 light filter kit (Carl Zeiss, Germany).

Results. Intravenous administration of LHT-3-18 solution in doses of 58 and 29 mg/kg in the prophylactic mode, with irreversible occlusion of the middle cerebral artery resulted in the formation of a milder neurological deficit, reduced the amount of cerebral necrosis, reduced glutamic acid, had a significant protective effect on astrocytes in the hippocampus culture, reducing OGD-induced increase in Ca^{2+} and suppressing death.

Conclusion. Studies have shown that salt LHT-3-18 has pronounced neuroprotective properties, suppresses the percentage of cells dying due to necrosis in the mixed hippocampal culture and reduces the OGD-induced increase in Ca^{2+} .

Keywords: occlusion of the middle cerebral artery, glutamic acid, NMDA receptors, oxygen-glucose deficiency

Введение

Острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) является второй по частоте причиной смерти населения и лидирующей причиной инвалидизации пациентов в мире; при этом на долю ишемических инсультов приходится до 75-80% от общего числа случаев в структуре ОНМК [5]. Ишемический инсульт является результатом полного прекращения или частичного (но существенного) снижения кровотока по мозговым артериям вследствие их тромбоза или эмболии, влекущим формирование острого дефицита кислорода и глюкозы с последующим запуском молекулярных механизмов программируемой гибели мозговых клеток (апоптоза) или некроза паренхимы органа [6]. Вне зависимости от того является ли ишемия перманентной (при условии сохраняющейся окклюзии артериального ствола), или преходящей с последующей реперфузией, в ткани головного мозга наблюдаются явления межклеточной дезинтеграции, дисфункции и гибели нейронов, соответствующие объему и очагу ишемического поражения [5]. Повреждение головного мозга при ишемическом инсульте происходит в результате множества синергически взаимодействующих молекулярных, генетических, физиологических и биохимических процессов, нарушающих нейронные функции и приводящих к гибели клеток [8, 13] посредством механизмов разрыва, лизиса, фагоцитоза, инволюции и сморщивания [9]. Понимание указанных механизмов является единственным эффективным путем на пути разработки эффективных терапевтических

защитных стратегий при ОНМК. При ишемическом инсульте гибель нейронов происходит в результате либо апоптоза, либо некроза [7, 8]. Определяющим обстоятельством при этом является время развития ишемии, продолжительность атаки, глубина редукции кровотока и др. Некроз преобладает в случае полного обширного прекращения поступления кислорода и глюкозы к ткани головного мозга с образованием ишемического ядра [12]. Эксайтотоксические эффекты ишемии головного мозга опосредуются в том числе формированием дисфункции митохондрий. Причем, источником нарушений является как окислительный и нитроопосредованный стресс, так и прямое повреждающее действие высоких концентраций ионов Ca^{2+} в цитозоле нейрона [11]. Ишемическая перегрузка клеток Ca^{2+} сопровождается перегрузкой дыхательной цепи митохондрий, что приводит к подавлению окисления и повышению свободнорадикальных реакций в самих митохондриях [7].

Одним из перспективных подходов к сдерживанию повреждающего действия ишемии на ткань ГМ является применение органических солей двухвалентных металлов. Так, в частности, в последнее время были показаны церебропротекторные, антиоксидантные свойства магниевого соединения аминсульфокислоты в эксперименте как на лабораторных животных, так и в культуре клеток [1, 2]. В исследовании Duanetal. установлен нейропротекторный эффект сульфата цинка, проявляющийся в подавлении апоптоза, активности перекисного окисления липидов, снижении аккумуляции молочной кислоты в ткани головного мозга на фоне подавления активности потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов [11].

Таким образом, поиск и изучение новых фармакологических подходов к профилактике и лечению ишемического повреждения ГМ продолжает оставаться актуальной задачей современной медицинской науки и практики. Целью настоящего исследования явилось комплексное изучение эффективности цинковой соли 2-аминоэтансульфоновой кислоты ЛХТ-3-18 у крыс с необратимой перевязкой средней мозговой артерии и влияния вещества на выживаемость различных типов нейронов и клеток астроцитарной глии в смешанной нейроглиальной культуре гиппокампа в условиях глюкозо-кислородной депривации.

Методика

Исследование проведено на 20 крысах-самцах Sprague Dawley весом 250-300 г., приобретенных в питомнике ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН». Для получения смешанной нейроглиальной культуры использовали головной мозг 6 эмбрионов крыс (P3) Sprague Dawley. Культуру готовили в соответствии с ранее описанным методом [11]. Содержание крыс, осуществление всех манипуляций с животными проводили в соответствии с положениями Приказа Минздрава России №199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и Директивой Совета Европы по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей. Болезненные процедуры проводили под внутривенным обезболиванием (уретан 800 мг/кг), выведение животных из опыта осуществляли под эфирным наркозом. Протокол экспериментальных исследований одобрен Локальным этическим комитетом Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарёва» протокол №57 от 13.11.2017.

В работе изучено соединение с лабораторным шифром ЛХТ-3-18 – цинка 2-аминоэтансульфоноат в виде субстанции (чистота 98,75%), синтезированное в отделе химии, технологии синтетических лекарственных средств и аналитического контроля АО «ВНЦ БАВ» (Россия). При *in vivo* исследованиях водный раствор соединения вводили животным в вену хвоста с помощью электронного микродозатора производства Kent Scientific (США) в дозах, составляющих 2,5 и 5% от показателя LD_{100} , определенного при данном пути введения крысам [3, 4]. На *in vitro* моделях клетки смешанной нейроглиальной культуры инкубировали с ЛХТ-3-18 в широком диапазоне концентраций, определенных с учетом молекулярной массы вещества. В качестве препарата сравнения в опытах на животных использовали жидкую лекарственную форму центрального блокатора кальциевых каналов L-типа нимодипина («Нимотоп», раствор для инфузий 10 мг во флаконах по 50 мл производства «Bayer», Германия), для исследований *in vitro* – структурный аналог изучаемого соединения с известной активностью [11] – вещество с лабораторным шифром ЛХТ-3-17 (магния бис-2-ацетаминотансульфоноат).

Необратимую перевязку средней мозговой артерии осуществляли у наркотизированных и находящихся на искусственном дыхании (аппарат ТРО, Kent Scientific, США) крысах, голову которых фиксировали в стереотаксической установке SG-3N (Япония). Операционные действия выполняли под операционным микроскопом (OLYMPUS, SZ-40, Япония). После формирования трепанационного отверстия и резекции скуловой кости перевязывали среднюю мозговую артерию у ее основания. Операционную рану послойно закрывали. Введение исследуемого вещества и

препарата сравнения осуществляли внутривенно за 15 мин. до окклюзии СМА. Оценку неврологического дефицита проводили по 8-балльной шкале Bederson et al. [4] на 7-е и 14-е сут. эксперимента. Уровень глутаминовой кислоты определяли в плазме крови и ткани головного мозга животных флуориметрическим методом по Grahamand и Aprison на фотометре «Emilite1201» (США) при длине волны активации 350 нм и длине волны регистрации 460 нм [9]. Для количественного определения размеров зоны некроза головного мозга использовали индикаторный метод: проводили инкубацию кусочков ГМ с 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом (ТТХ «Sigma-Aldrich», Германия) по [10].

Для создания условий кислородно-глюкозной депривации (OGD) в культуре клеток гиппокампа в среде Хенкса выполняли путем замещения глюкозы на эквивалентное количество сахарозы и вытеснением растворенного кислорода продувкой аргона в специальной герметичной системе. Уровень кислорода в ишемической среде был измерен с помощью электрода Кларка и составлял 30-40 мм рт. ст. Ишемическую среду подавали в экспериментальную ячейку с клетками на 40 мин. с помощью перфузионной системы с постоянным поддувом инертным газом, что позволяло избегать контакта с кислородом воздуха. Действие кислородно-глюкозной депривации на клетки оценивали по амплитуде и характеру Ca^{2+} -сигналов, измеренных методом внутриклеточного биоимиджинга с использованием флуорозонда Fura-2 (США) на установке Axiovert (CarlZeiss, Германия). Число жизнеспособных и мертвых клеток определяли с помощью окрашивания йодидом пропидия (PI, 1 мкг/мл, Merck Sigma-Aldrich, Германия) под флуоресцирующий красным светом с использованием набора светофильтров Filter Set 49 (Carl Zeiss, Германия).

Статистический анализ полученных результатов осуществляли в приложении BioStat (Россия) с использованием одномерного дисперсионного анализа (ANOVA) или критерия Колмогорова-Смирнова для определения нормальности распределения и критериев Ньюмена-Кейлса и Тьюки для сравнения более двух средних величин.

Результаты исследования и их обсуждение

Необратимая перевязка СМА в контрольной группе животных приводила к выраженным неврологическим расстройствам на 7-е сут. опыта: суммарный балл по шкале Bederson составил 7,6, что свидетельствует о глубоком нарушении двигательной и чувствительной сферы животных (рис. 1). К 14 сут. отмечалось некоторое снижение интенсивности неврологической симптоматики, не носившее, однако, статистической значимости. Внутривенное введение вещества ЛХТ-3-18 в профилактическом режиме приводило к формированию более мягкого неврологического дефицита, что косвенно может свидетельствовать о более легком поражении головного мозга при перевязке средней мозговой артерии. При этом, следует обратить внимание, что в сериях животных, получавших исследуемое соединение ЛХТ-3-18 и препарат сравнения нимодипин в высших терапевтических дозах 58 мг/кг в дозе 1,6 мг/кг соответственно, отмечалось достоверное улучшение неврологического статуса к 14-м суткам наблюдения, по сравнению с 7- сутками опыта (рис. 1).

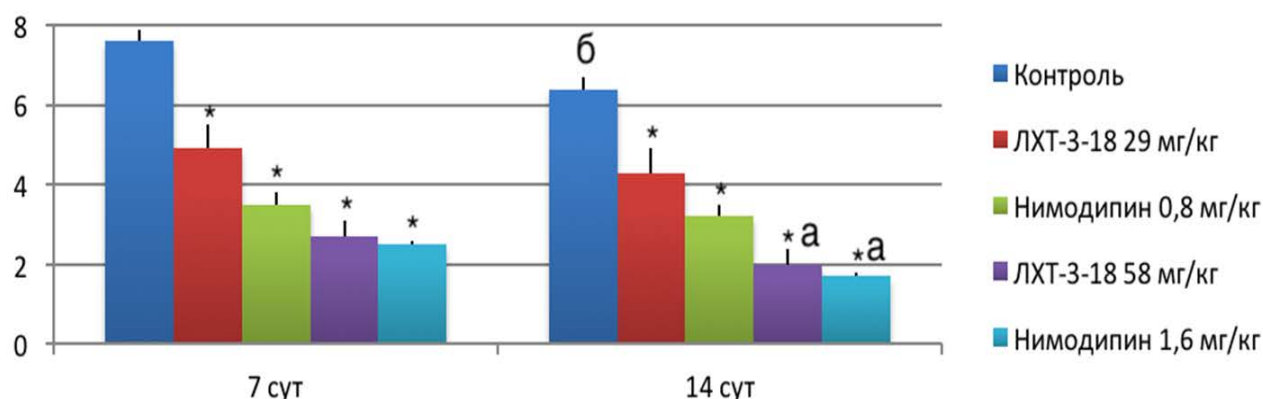


Рис. 1. Значения баллов неврологического дефицита ($M \pm MSE$), рассчитанных для животных в исследуемых группах, на 7 и 14 сут. после формирования ишемии головного мозга * – различия достоверны при сравнении с соответствующим контролем при $p < 0,05$; а, б – различия достоверны при сравнении с соответствующими значениями, определенными на 7 сут. при $p < 0,05$ (критерии Колмогорова Смирнова, Тьюки)

При изучении морфологических изменений в головном мозге в контрольной группе животных поражение соответствовало трем четвертям ткани ипсилатерального полушария. Внутривенное введение ЛХТ-3-18 во всех исследуемых дозах сокращало объем мозгового некроза, что было сопоставимо с препаратом сравнения нимодипином. Введение веществ в дозах, пропорциональных 5% от показателя ЛД₁₀₀ было более эффективным, чем экспериментальная терапия в два раза меньшей дозе (табл. 1).

Таблица 1. Показатели объема поражения ипсилатерального полушария головного мозга при необратимой окклюзии средней мозговой артерии у животных опытных и контрольной групп (% к общему объему ипсилатерального полушария)

№ п/п	Фармакологическое воздействие	Время измерения – 14 сут.
1	Контроль	74±5
3	ЛХТ-3-18 29 мг/кг	52±4*
4	Нимодипин 0,8 мг/кг	47±6*
5	ЛХТ-3-18 58 мг/кг	38±3* ^А
6	Нимодипин 1,6 мг/кг	36±6* ^А

Примечание: * – различия статистически достоверны при сравнении с контролем при $p < 0,05$; А – различия статистически значимы при сравнении с группой животных, получавших меньшую дозу вещества при $p < 0,05$ (критерии Колмогорова Смирнова, Ньюмена-Кейлса)

Формирование необратимой ишемии головного мозга сопровождается тенденцией к росту уровня глутаминовой кислоты на всем протяжении периода наблюдения (в течение 3 ч.), а в точке 1 ч. значения статистически достоверно отличаются от исходных значений. Профилактическое внутривенное введение ЛХТ-3-18 в дозах 29 и 58 мг/кг предотвращает рост плазменной концентрации глутамата у животных с острым нарушением мозгового кровоснабжения в точках 1 ч. и 2 ч., о чем свидетельствуют сниженные при сравнении с контрольной группой животных уровни нейромедиатора в крови (табл. 2). Наиболее эффективно предотвращала элевацию уровня глутаминовой кислоты в крови исследуемое соединение ЛХТ-3-18 в дозе 58 мг/кг и препарат сравнения в обеих исследуемых дозах – 1,6 мг/кг и 0,8 мг/кг.

Таблица 2. Динамика концентрации глутаминовой кислоты (мкМ/л) в крови животных с необратимой ишемией головного мозга на фоне внутривенного введения ЛХТ-3-18 и препарата сравнения

№ п/п	Фармакологический агент	Доза, мг/кг	Время регистрации уровня глутаминовой кислоты				
			Исход	Окклюзия	1 ч.	2 ч.	3 ч.
1	Контроль	-	149±11	173±14	187±11*	175±12	153±10
2	ЛХТ-3-18	29	150±11	157±10	100±11*	124±9*	142±13
3		58	148±8	154±8	88±7*	101±10*	151±14
4	Нимодипин	0,8	151±13	149±12	86±10*	94±9*	129±12*
5		1,6	149±9	144±13	83±8*	95±10*	128±11*

Примечание: * – различия при сравнении с контролем статистически значимы при $p < 0,05$ (ANOVA, критерий Тьюки)

Однако, поскольку не было установлено статистически значимых преимуществ между введением препарата сравнения нимодипина в дозе 1,6 мг/кг и исследуемого вещества в дозе 58 мг/кг, более целесообразным видится профилактическое введение более низкой дозы оригинальной субстанции цинковой соли ЛХТ-3-18.

Проведенные исследования показали, что изученная соль ЛХТ-3-18 не уступает аналогу по нейропротекторным свойствам в опытах *in vitro* и снижает долю погибающих вследствие некроза клеток гиппокампа в культуре (рис. 2А). OGD вызывает двухфазные кальциевые сигналы как в глутаматергических, так и ГАМК-ергических нейронах (рис. 2Б, Г-З). ЛХТ-3-18 в концентрации 1 мМ эффективно подавляет не только Ca^{2+} -сигналы всех нейронов на аппликацию 10 мкМ NMDA в безмагниевой среде, но и полностью ингибирует первую фазу OGD-индуцированного увеличения концентрации ионов Ca^{2+} в нейронах.

В тоже время, ЛХТ-3-18, как правило, не действует на генерацию первой фазы OGD-индуцированных сигналов. При этом, в эффективности подавления второй фазы OGD-

индуцированного увеличения Ca^{2+} в цитозоле как глутаматергических, так и ГАМК-ергических нейронов, оба нейропротектора проявляют схожие свойства. Для ГАМК-ергических нейронов, содержащих парвальбумин (рис. 2 Г), вторая фаза OGD-индуцированного Ca^{2+} -сигнала существенно ниже, по сравнению с ГАМК-ергическими нейронами без парвальбумина (рис. 2В) в присутствии ЛХТ-318. Для ГАМК-ергических нейронов, которые содержат или не содержат кальбиндин, эффект ЛХТ-318 на цитозольный кальций при OGD выражен слабее (рис. 3) или не выражен, что может быть обусловлено различиями в экспрессии NMDA-рецепторов и активности кальций-транспортирующих систем в этих подтипах ГАМК-нейронов.

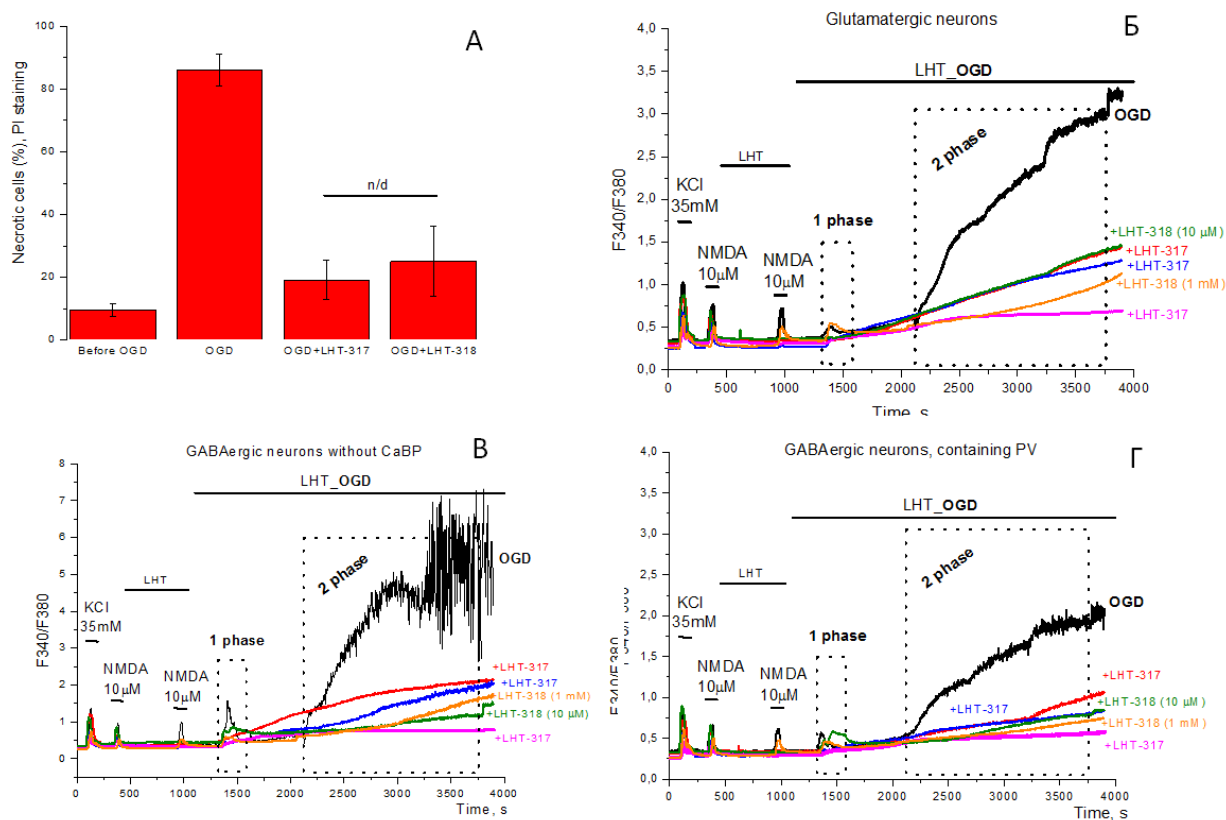


Рис. 2. Усредненные результаты кальциевых ответов нейронов в ответ на инкубацию с ЛХТ-318 и веществом сравнения в условиях кислородного дефицита, полученные с трех независимых клеточных культур гиппокампа. А – тесты на выживаемость показывают высокий нейропротекторный эффект исследованных соединений; Б – Ca^{2+} -сигналы глутаматергических нейронов в зависимости от присутствия двух концентраций ЛХТ-318 и вещества сравнения ЛХТ-317 (1 мМ); В – Ca^{2+} -сигналы ГАМК-ергических нейронов, не содержащих кальций-связывающих белков (CaBP) в зависимости от присутствия двух концентраций ЛХТ-318 и вещества сравнения ЛХТ-317 (1 мМ); Г – Ca^{2+} -сигналы ГАМК-ергических нейронов, содержащих парвальбумин (PV+) в качестве кальций-связывающего белка в зависимости от присутствия двух концентраций ЛХТ-318 и вещества сравнения ЛХТ-317 (1 мМ)

Существенным является тот факт, что исследованные соединения оказывают существенное защитное действие на астроциты в культуре (рис. 3), снижая OGD-индуцированное увеличение концентрации цитозольного кальция и подавляя гибель. Этот нейропротекторный эффект может быть обусловлен нейроглиальными взаимодействиями, т.к. снижение эксайтотоксического действия ишемии на нейроны в присутствии ЛХТ-318 может способствовать выживанию астроцитов. С другой стороны, поскольку вещества (ЛХТ-318 и соединение сравнения ЛХТ-317) являются недавно разработанными, то возможны их прямые эффекты на рецепторы астроцитов.

Проведенное исследование позволило установить, что цинк-содержащее соединение аминосульфокислоты проявляет свойства церебропротектора при профилактическом внутривенном введении в терапевтических дозах. Фармакологическое действие проявляется в ограничении неврологического дефицита и объема поражения паренхимы ГМ. Ранее подобные

эффекты были описаны для магниевых солей сульфокислот. При этом, одним из ведущих механизмов подобных эффектов может быть конкурентное подавление входа кальция через кальциевые каналы NMDA-рецепторов и ограничение эксайтотоксического стимулирующего действия глутаминовой кислоты на глутаматергические нейроны.

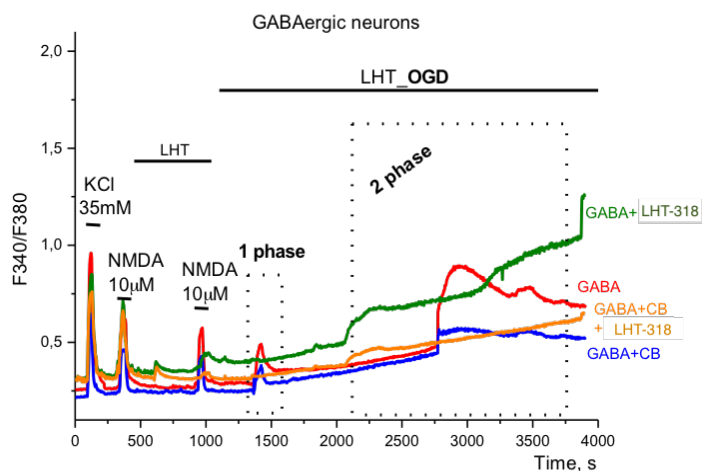


Рис. 3. Ca^{2+} -сигналы ГАМКергических нейронов, содержащих и не содержащих кальбиндин (CB+) в качестве кальций-связывающего белка в зависимости от присутствия ЛХТ-317 (1 мМ) (усредненные результаты, полученные с 3-х независимых клеточных культур гиппокампа)

Кроме того, мы установили, что существенный вклад в церебропротекторное действие ЛХТ-318 связано со способностью вещества ограничивать кальций-опосредованную активацию парвальбумин-содержащих ГАМК-ергических нейронов в условиях острой кислородной депривации. При определении спектра последующих исследований необходимо отметить, что отдельно должны быть решены некоторые вопросы молекулярно-биологической природы фармакологического эффекта цинк-содержащего соединения 2-аминоэтансульфоновой кислоты. Среди таковых особо хотелось бы отметить необходимость определения IC_{50} для ЛХТ-3-18 по подавлению кальциевой проводимости глутаматергических и ГАМК-ергических нейронов в условиях формирования ишемияподобных условий культивирования. Интересным и перспективным видится проведение исследований механизма действия – обратимости эффектов, влияния на активность других глутаматных рецепторов.

Выводы

1. При необратимой перевязке СМА у крыс профилактическое введение соединения ЛХТ-3-18 уменьшает объем гибели ткани ГМ, регистрируемый через 7 и 14 сут. после моделирования острого нарушения мозгового кровоснабжения, что сопровождается ослаблением неврологического дефицита у животных.
2. ЛХТ-3-18 во всех концентрациях продемонстрировал высокий защитный потенциал при глюкозо-кислородной депривации (OGD), существенно снижая вход ионов кальция во время второй фазы OGD-индуцированного сигнала в глутаматергических и ГАМК-ергических нейронах (в том числе содержащих парвальбумин). При этом ингибитор ЛХТ-3-18 в концентрациях 100 мкМ и 1 мМ полностью подавляет первую фазу OGD-индуцированного увеличения цитозольного кальция в глутаматергических нейронах, но не ГАМК-ергических, что говорит о различном вкладе NMDA-рецепторов в первую фазу OGD-индуцированных реакций различных типов нейронов.

Литература (referens)

1. Семелева Е.В., Громова И.А., Блинов Д.С. и др. Эффективность некоторых солей 2-аминоэтансульфоновой кислоты при необратимой окклюзии средней мозговой артерии в эксперименте //

- Медицинский альманах. – 2018. – Т. 56, №5. – С. 211-214. [Semeleva E.V., Gromova I.A., Blinov D.S i dr. *Medicinskij al'manah*. Medical Almanah. – 2018. – V.56(5) – P. 211-214. (in Russia)]
2. Суслина З.А., Пирадов М.А. Инсульт: диагностика, лечение, профилактика. – М.: МЕД пресс-информ, 2009. – 288 с. [Suslina Z.A., Piradov M.A. *Insul't: diagnostika, lechenie, profilaktika*. Stroke: diagnosis, treatment, prevention. – Moscow: MED press-inform, 2009. – 288 p. (in Russia)]
 3. Busl K.M., Greer D.M. Hypoxic-ischemic brain injury: Pathophysiology, neuropathology and mechanism // *NeuroRehabilitation*. – 2010. – V.26. – P. 5-13.
 4. Graham L.T. Jr., Aprison M.H. Fluorometric determination of aspartate, glutamate, and gamma-aminobutyrate in nerve tissue using enzymic methods // *Analitical Biochemistry*. – 1966. – V.15. – P. 487-497.
 5. Dirnagl U. Pathobiology of ischaemic stroke: anintegrated view // *Trends Neuroscince*. – 1999. – V.22. – P. 391-397.
 6. Del Zoppo G.J., Sharp F.R., HeissW.-D. et al. Heterogeneity in the penumbra // *Journal Cerebral Blood Flow Metabolism*. – 2011. – V.31. – P. 1836-1851.
 7. Chen H., Yoshioka H., Kim G.S. et al. Oxidative stress in ischemic brain damage: mechanisms of cell death and potential molecular targets for neuroprotection // *Antioxidant and Redox Signaling*. – 2011. – V.14. – P. 1505-1517.
 8. Lo E.H., Dalkara T., Moskowitz M.A. Mechanisms challenges and opportunities in stroke // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2013. – V.4. – P. 399-415.
 9. Moskowitz M.A., Lo E.H., Iadecola C. The science of stroke: mechanisms in search of treatments // *Neuronscience*. – 2010. – V.67. – P. 181-198.
 10. Bederson J., Pitts L., Tsuji M. et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurological examination // *Stroke*. – 1986. – V.17. – P. 472-476.
 11. Turovsky E.A., Blinova E.V., Semeleva E.V. et al. Aminoethane Sulfonic Acid Magnesium Salt Inhibits Ca^{2+} Entry Through NMDA Receptor Ion Channel In Vitro // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2018. – V.166. – P. 39-43.
 12. Woodruff T.M., Thundiyil J., TangS.-C. et al. Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke // *Molecular Neurodegener.* – 2011. – V.6. – Art.11.
 13. Wang Y., Qin Z-H. Molecular and cellular mechanisms of excitotoxic neuronal death // *Apoptosis*. – 2010. – V.15. – P. 1382-1402.

Информация об авторах

Крайнова Юлия Сергеевна – аспирант кафедры факультетской хирургии, ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва». E-mail: ksk_1991@rambler.ru

Блинова Екатерина Валериевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет). E-mail: bev-sechenov@yandex.ru

Семелева Елена Владимировна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры амбулаторно-поликлинической терапии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва» Минздрава России. E-mail: shtanina37@mail.ru

Блинов Дмитрий Сергеевич – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник АО «Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ». E-mail: blinov-pharm@yandex.ru

Юрочкина Александра Михайловна – научный сотрудник лаборатории фармакологии АО «Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ». E-mail: blinov-pharm@yandex.ru

Туровский Егор Александрович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории «Внутриклеточной сигнализации» Института биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН». E-mail: turovsky.84@mail.ru

Лобанова Елена Георгиевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России. E-mail: e.g.lobanova@mail.ru

Дагар Елена Александровна – аспирант кафедры факультетской хирургии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва». E-mail: alenacosmet@yandex.ru

Орлов Егор Александрович – студент лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет). E-mail: orlegor@mail.ru

Шукуров Аслиддин Сайфиддинович – аспирант кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет). E-mail: bev-sechenov@yandex.ru