Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова
2020, т. 120, № 8, с. 83-89
https://doi.org/10.17116/jnevro202012008183

S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry
2020, vol. 120, no 8, pp. 83-89
https://doi.org/10.17116/jnevro202012008183

Сравнительное изучение влияния Кортексина, Церебролизина и Актовегина на состояние памяти, мозговое кровообращение и структуру гиппокампа у крыс с хроническим нарушением мозгового кровообращения

© И.Н. ТЮРЕНКОВ[1], Д.В. КУРКИН[1], А.В. КАЛАТАНОВА[2], А.Р. ДОРОТЕНКО[2], Д.А. БАКУЛИН[1], Е.И. МОРКОВИН[1], Д.В. ВЕРХОЛЯК[1], Ю.В. ГОРБУНОВА[1], Н.В. АТАПИНА[1], А.В. СМИРНОВ[1], М.В. ШМИДТ[1]

[1]ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия;
[2]ЗАО «Фарм-Холдинг», Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Цель исследования. Оценить влияние курсовой терапии препаратами Кортексин, Церебролизин и Актовегин на состояние памяти, мозговое кровообращение и структуру гиппокампа у крыс с хроническим нарушением мозгового кровообращения (ХНМК).

Материал и методы. Исследование проводили на крысах-самцах с ХНМК, которое моделировали стенозом сонных артерий на 50%. Лечение проводили двумя 10-дневными курсами (с перерывом 10 дней): вводили Кортексин (0,3; 1 или 3 мг/кг), Церебролизин (0,8; 2,5 или 7,5 мл/кг) и Актовегин (5 мл/кг). Выраженность нарушений памяти оценивали в водном лабиринте Морриса, тестах УРПИ и ТЭИ. На завершающем этапе у животных методом лазерной флоуметрии определяли состояние мозгового кровообращения, после чего проводили морфометрию структур гиппокампа.

Результаты. Нарушения памяти сопровождались морфологическими изменениями в СА1 и СА4 зонах гиппокампа. Курсовое введение животным с ХНМК препаратов Кортексин (1 и 3 мг/кг) и Церебролизин (2,5 и 7,5 мл/кг) значимо не влияло на уровень мозгового кровотока, но способствовало сопоставимому улучшению процессов формирования и сохранения памятного следа в водном лабиринте Морриса, при этом эффект сохранялся после 10-дневной отмены, а при морфологической оценке отмечалась меньшая выраженность патологических изменений в зонах гиппокампа.

Заключение. Курсовое применение препаратов Кортексин и Церебролизин приводит к уменьшению выраженности нарушений памяти и патоморфологических изменений гиппокампа у животных с ХНМК.

Ключевые слова: *хроническая ишемия головного мозга, Кортексин, Церебролизин, Актовегин, когнитивные нарушения.*

Информация об авторах:
Тюренков И.Н. — https://orcid.org/0000-0001-7574-3923; e-mail: int1943@mail.ru*
Куркин Д.В. — https://orcid.org/0000-0002-1116-3425
Бакулин Д.А. — https://orcid.org/0000-0003-4694-3066
Морковин Е.И. — https://orcid.org/0000-0002-7119-3546
ВерхолякД.В. — https://orcid.org/0000-0002-6783-1867
Атапина Н.В. — https://orcid.org/0000-0001-8272-5950
Горбунова Ю.В. — https://orcid.org/0000-0002-1116-3425
Смирнов А.В. — e-mail: avsmirnov@volgmed.ru
Шмидт М.В. — https://orcid.org/0000-0002-5896-6727
Калатанова А.В. — https://orcid.org/0000-0003-2623-6014
Доротенко А.Р. — https://orcid.org/0000-0003-1142-6325
* — **автор, ответственный за переписку**

Как цитировать:
Тюренков И.Н., Куркин Д.В., Калатанова А.В., Доротенко А.Р., Бакулин Д.А., Морковин Е.И., Верхоляк Д.В., Горбунова Ю.В., Атапина Н.В., Смирнов А.В., Шмидт М.В. Сравнительное изучение влияния Кортексина, Церебролизина и Актовегина на состояние памяти, мозговое кровообращение и структуру гиппокампа у крыс с хроническим нарушением мозгового кровообращения. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2020;120(8):83–89.
https://doi.org/10.17116/jnevro202012008183

Comparative study of protective effects of Cortexin, Cerebrolysin and Actovegin on memory impairment, cerebral circulation and morphological changes in the hippocampus of rats with chronic brain ischemia

© I.N. TYURENKOV[1], D.V. KURKIN[1], A.V. KALATANOVA[2], A.R. DOROTENKO, D.A. BAKULIN, E.I. MORKOVIN[1], D.V. VERHOLYAK[1], YU.V. GORBUNOVA[1], N.V. ATAPINA[1], A.V. SMIRNOV[1], M.V. SCHMIDT[1]

[1]Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia;
[2]Pharm-Holding CJSC, St. Petersburg, Russia

Abstract

Objective. To compare the effects of cortexin, cerebrolysin and actovegin on memory impairment, cerebral circulation and morphological changes in the hippocampus of rats with chronic brain ischemia.

Material and methods. The study was conducted using male rats with chronic brain ischemia caused by stenosis of the common carotid arteries by 50%. Animals received cortexin (0,3; 1 or 3 mg/kg), cerebrolysin (0,8; 2,5 or 7,5 ml/kg) and actovegin (5 ml/kg) in two 10-day courses with 10 days of treatment break. The severity of cognitive impairment was evaluated using the Morris water maze, passive and active avoidance tests. Cerebral circulation using laser flowmetry and brain hippocampus structures were studied in the end of treatment.

Results. Cognitive impairment in animals with chronic brain ischemia was accompanied by the development of pathological changes in the CA1 and CA4 regions of the hippocampus. Administration of cortexin (1 and 3 mg/kg) and cerebrolysin (2.5 and 7.5 ml/kg) to rats with chronic brain ischemia had almost no effect on cerebral blood flow, but contributed to the improvement in memory formation and retrieval processes in the Morris water maze. The treatment effect was comparable for both drugs and persisted after 10 days of treatment break. Morphological assessment showed a decrease in the severity of pathological changes in the hippocampal regions.

Conclusion. The course-administration of cortexin and cerebrolysin lead to a decrease in the severity of memory impairment and pathomorphological changes in the hippocampus in rats with chronic brain ischemia.

Keywords: *chronic brain ischemia, cortexin, cerebrolysin, actovegin, cognitive impairment.*

Information about authors:
Tyurenkov I.N. — https://orcid.org/0000-0001-7574-3923; e-mail: int1943@mail.ru*
Kurkin D.V. — https://orcid.org/0000-0002-1116-3425
Bakulin D.A. — https://orcid.org/0000-0003-4694-3066
Morkovin E.I. — https://orcid.org/0000-0002-7119-3546
Verkholyak D.V. — https://orcid.org/0000-0002-6783-1867
Atapina N.V. — https://orcid.org/0000-0001-8272-5950
Gorbunova J.V. — https://orcid.org/0000-0002-1116-3425
Smirnov A.V. — e-mail: avsmirnov@volgmed.ru
Shmidt M.V. — https://orcid.org/0000-0002-5896-672
Kalatanova A.V. — https://orcid.org/0000-0003-2623-6014
Dorotenko A.R. — https://orcid.org/0000-0003-1142-6325
* — **corresponding author**

To cite this article:
Tyurenkov IN, Kurkin DV, Kalatanova AV, Bakulin DA, Morkovin EI, Verholyak DV, Gorbunova YuV, Atapina NV, Smirnov AV, Schmidt MV. Comparative study of protective effects of Cortexin, Cerebrolysin and Actovegin on memory impairment, cerebral circulation and morphological changes in the hippocampus of rats with chronic brain ischemia. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry = Zhurnal nevrologii i psikhiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2020;120(8):83–89. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/jnevro202012008183

Кортексин, Церебролизин и Актовегин содержат комплекс естественных биологически активных веществ, обеспечивающих защиту нейронов, способствующих нейропластичности и нейрогенезу, улучшающих энергетический обмен и трофику головного мозга (ГМ). Кортексин и Церебролизин содержат полипептиды ГМ крупного рогатого скота или свиней и оказывают выраженное нейропротективное действие при нарушениях мозгового кровообращения [1—4]. Кортексин — российский полипептидный препарат, который в отличие от Церебролизина изготавливают из коры ГМ. Актовегин — высокофильтрованный экстракт крови телят, улучшающий метаболизм ткани мозга [5—8].

Цель исследования — оценить влияние курсовой терапии препаратами Кортексин, Церебролизин и Актовегин на состояние памяти, мозговое кровообращение и структуру гиппокампа у крыс с хроническим нарушением мозгового кровообращения (ХНМК).

Материал и методы

Эксперимент выполнен на 144 самцах крыс, масса тела 300—350 г (Филиал «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» РАМН (Московская обл.)) в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза. Протокол исследования одобрен Региональным независимым этическим комитетом, регистрационный номер ИРБ 00005839 IORG 0004900 (OHRP), протокол №132 от 20 мая 2019г.

ХНМК моделировали посредством стенозирования общих сонных артерий (ОСА) на 50%. В качестве анестезии использовали золетил/ксилазил в дозе 20/8 мг/кг (в/б). Схема операции представлена на **рис. 1** и подробно описана в предыдущих работах [9], дизайн исследования представлен на **рис. 2**. Исследование включало моделирование ХНМК, контроль развития неврологического дефицита через 40 дней, два 10-дневных периода лечения (лекарственные препараты вводили ежедневно, однократно внутримышечно), разделенных 10-дневным перерывом. В конце каждого периода животных тестировали в водном лабиринте Морриса (ВЛМ), тестах условной реакции пассивного избегания (УРПИ) и экстраполяционного избавления (ТЭИ). В ВЛМ оценивали обучаемость и сохранение пространственной памяти в процессе 4-дневного обучения поиску затопленной платформы [10]. В тестах УРПИ и ТЭИ определяли сохранность навыка пассивного избегания и активного избавления от аверсивной среды, обучение которым проводили до моделирования патологии [11]. В конце эксперимента определяли уровень мозгового кровотока методом лазерной допплерографии («Biopac Systems

Inc.», США). После эвтаназии ГМ извлекали и исследовали патоморфологические изменения в CA1 и CA4 зонах гиппокампа. Морфометрию проводили на окрашенных по методу Ниссля срезах. Степень поражения оценивали по трем категориям: нормальные нейроны (НН); слабоизмененные нейроны (СН) с сохранением ядра, но со структурными или тинкториальными нарушениями компонентов цитоплазмы (набухание, гиперхроматоз, хроматолиз, центральная тинкториалъная ацидофилия); грубоизмененные нейроны (ГН) — выраженное сморщивание, гомогенизирующее изменение нейронов, клетки-тени. Кортексин и Церебролизин вводили в дозах, составляющих $^1/_3$ терапевтической дозы (ТД), ТД и 3 ТД, Актовегин — только в ТД [12—14] **(табл.1)**.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием Microsoft Office Excel 2016 («Microsoft», США) и Prism 6 («GraphPad Software Inc.», США), критерия Данна и *t*-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони. Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки ($M \pm m$).

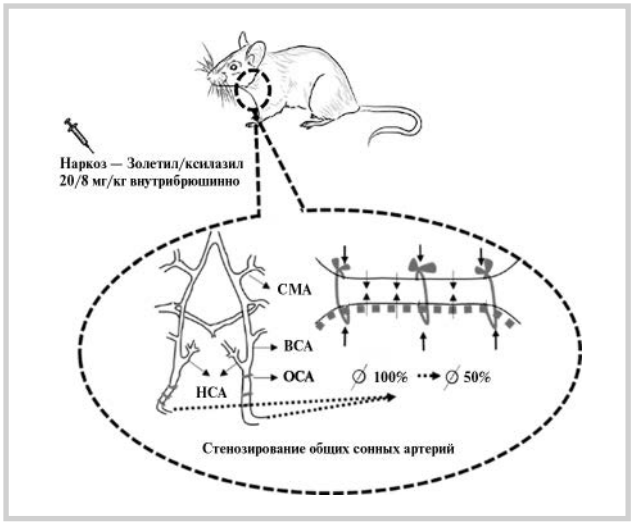


***Рис. 1*. Общий принцип моделирования стеноза обших сонных артерий: ОСА — общая сонная артерия; НСА — наружная сонная артерия; ВСА — внутренняя сонная артерия; СМА — средняя мозговая артерия.**

***Fig. 1*. Chronic brain ischemia modeling by stenosis of the common carotid arteries by 50%: CCA — common carotid artery; ECA — external carotid artery; ICA — internal carotid artery; MCA — middle cerebral artery.**

Результаты

Оценка формирования и воспроизведения памятного следа в ВЛМ

Тест ВЛМ проводили с 6-го по 10-й день после начала лечения, а затем с 6-го по 10-й день после отмены лечения и с 6-го по 10-й день после повторного курса терапии: ежедневно 4 раза в день животное помещали в определенные зоны бассейна по одинаковой схеме и фиксировали латентный период нахождения площадки **(табл. 2)**. На протяжении всего эксперимента в ВЛМ животные группы плацебо значимо дольше искали затопленную платформу по сравнению с интактной группой ($p<0,05$). В конце первого курса лечения на 4-й день площадку быстрее находили животные интактной группы и получавшие Кортексин в дозе 1 или 3 мг/кг ($p<0,05$), Церебролизин (2,5 или 7,5 мл/кг; $p<0,05$) или Актовегин.

В период отмены лечения **(см. табл. 2)** в группах, получавших Кортексин в дозах 0,3, 1,0 и 3,0 мг/кг, а также Церебролизин в дозе 2,5 мл/кг и Актовегин, отмечено, что в отличие от контрольных животные затрачивали на поиск платформы значимо меньше времени. В группе, получавшей Кортексин, в отличие от Церебролизина, эффективность не зависела от дозы.

В конце повторного курса лечения **(см. табл. 2)** значительное улучшение показателей в ВЛМ относительно контрольной группы наблюдалось у животных, которым вводили Кортексин, Церебролизин или Актовегин в 1 или 3 ТД. Перерывы в тестировании не приводили к угасанию памятного следа, что отмечалось у животных, получавших плацебо. Таким образом, в результате проведенного исследования было отмечено положительное сопоставимое влияние курсового введения Кортексина или Церебролизина на формирование и воспроизведение памятного следа в ВЛМ.

Оценка памяти в тестах УРПИ и ТЭИ

Формирование и проверку выработки навыков в тестах УРПИ и ТЭИ проводили за 24 ч до моделирования

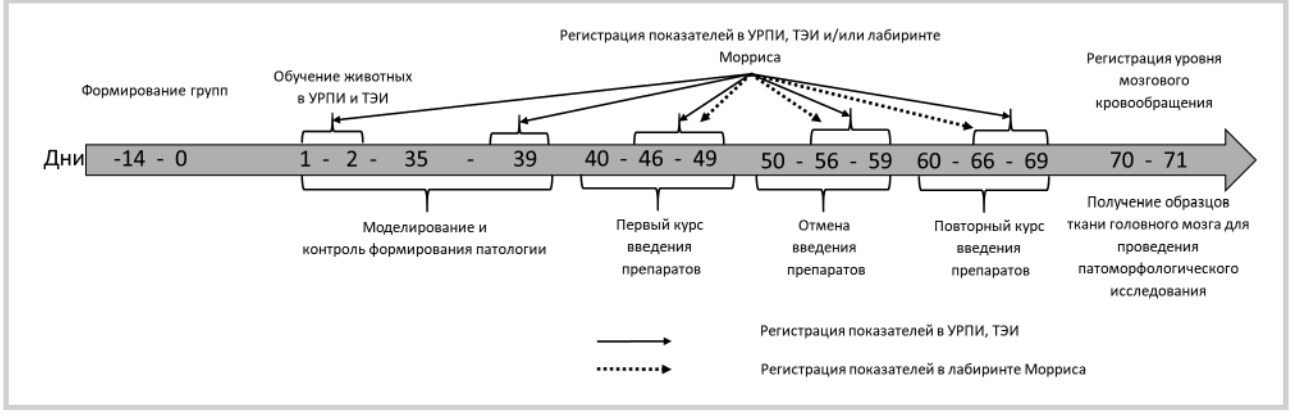


***Рис. 2*. Дизайн исследования.**

***Fig. 2*. Study design.**

Таблица 1. **Характеристика групп животных**
Table 1. **Characteristics of groups**

Группа животных	Доза		*n*
Интактная группа	—	—	15
Плацебо	—	—	16
Кортексин	1/3 ТД	0,3 мг/кг	16
	ТД	1,0 мг/кг	17
	3 ТД	3,0 мг/кг	16
Церебролизин	1/3 ТД	0,83 мл/кг	16
	ТД	2,5 мл/кг	16
	3 ТД	7,5 мл/кг	16
Актовегин	ТД	5 мл/кг	16

Примечание. *n* — число животных.
Notes. *n* — number of animals.

Таблица 2. **Среднее время нахождения площадки за 4 попытки в ВЛМ у животных с ХНМК в 3 экспериментальных периодах (с, M±m)**
Table 2. **Average search time in the Morris water maze in 3 experimental periods (s, M±m)**

Группа	1-й период		2-й период		3-й период	
	1-й день	4-й день	1-й день	4-й день	1-й день	4-й день
Интактная (*n*=15)	33,9±2,4	14,0±2,2	17,8±1,9	11,3±1,8	15,7±1,9	9,4±1,3
Плацебо (*n*=13)	45,3±1,3#	46,8±13,2#	41,8±4,5#	31,1±4,2#	42,3±4,2#	34,7±4,9#
Δ% от интактной группы	34	235	134	175	169	270
Кортексин (0,3 мг/кг; *n*=14)	43,0±3,2	28,5±3,8	26,4±4,3*	18,0±3,5	29,9±3,9	22,8±4,2
Δ% от группы плацебо	−5	−39	−37	−42	−29	−34
Кортексин (1 мг/кг; *n*=15)	45,9±2,7	22,4±4,1*	23,0±3,2*	22,6±3,5	20,8±2,9*	22,2±3,7
Δ% от группы плацебо	1	−52	−45	−27	−51	−36
Кортексин (3 мг/кг; *n*=14)	42,5±2,6	27,6±3,8	27,2±3*	22,8±3,1	29,4±4,3	19,7±3,3*
Δ% от группы плацебо	−6	−41	−35	−27	−31	−43
Церебролизин (0,83 мл/кг; *n*=15)	45,4±2,7	31,6±3,7	36,8±3,5	32,5±3,8	36,8±3,6	35,5±3,8
Δ% от группы плацебо	0	−32	−12	4	−13	2
Церебролизин (2,5 мл/кг; *n*=15)	43,5±3,4	19,7±3,2*	17,0±2,3*	19,8±3,6	18,6±3,4*	16,8±2,8*
Δ% от группы плацебо	−4	−58	−59	−36	−56	−52
Церебролизин (7,5 мл/кг; *n*=13)	45,2±2,6	30,4±5,2	37,3±4,2	24,8±4,4	23,5±3,7*	22,8±4,1
Δ% от группы плацебо	0	−35	−11	−20	−44	−34
Актовегин (5 мл/кг; *n*=15)	38,3±2,5	27,4±3,1	25,9±3,6*	21,9±3,7	24,8±3,8*	16,1±3,1*
Δ% от группы плацебо	−15	−42	−38	−30	−41	−54

Примечание. Здесь и в **табл. 3—6**: 1-й период — через 10 сут лечения; 2-й период — через 10 сут после периода отмены лечения; 3-й период — через 10 сут повторного периода лечения; # — различия статистически значимы по сравнению с интактной группой при $p<0,05$, *t*-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони; * — различия статистически значимы по сравнению с группой плацебо при $p<0,05$, *t*-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони.
Note. Here and in tabl. 3—6: period 1 — 10 days of treatment; period 2 — 10 day period of withdrawal of treatment; period 3 — 10 days of a repeated period of treatment; # — differences are statistically significant in comparison with the Intact group at $p<0.05$, One-way ANOVA with Bonferroni post hoc test; * — the differences are statistically significant compared with the placebo group at $p<0.05$, One-way ANOVA with Bonferroni post hoc test.

ХНМК. Все животные, включенные в исследование, успешно воспроизводили выученные навыки до операции: не заходили в темный отсек, в котором на этапе обучения получали электроболевое воздействие (УРПИ) и быстро выполняли экстраполяционную задачу в ТЭИ **(табл. 3 и 4)**. Через 39 дней после моделирования ХНМК проводили оценку сохранности памятного следа в тестах УРПИ и ТЭИ, затем повторяли тестирование 3 раза: после 10 дней лечения, 10 дней отмены и 10 дней повторной терапии.

Через 39 дней после моделирования ХНМК и до начала лечения по результатам выполнения тестов УРПИ и ТЭИ все группы животных с ХНМК были сопоставимы между собой **(см. табл. 3)**. При повторном воспроизведении навыков через 10 дней терапии, а также через 10 дней отмены лечения в опытных группах наблюдалась тенденция к удлинению времени захода в темный отсек установки УРПИ **(см. табл. 3)**. Статистически значимые различия величины латентного периода захода в темный отсек относительно контрольной группы наблюдались только в конце повторного курса лечения в группах, получавших Кортексин в дозах 1 или 3 мг/кг, или Церебролизин (2,5 мл/кг). В контрольной группе число животных, заходящих в темный отсек установки, увеличивалось с каждым тестированием, и в последней сессии большинство животных зашло в темный отсек, что может свидетельствовать о нарастании дегенеративных процессов и угасании памятного следа. Напротив, в группах животных, получавших Кортексин в дозах 1 или 3 мг/кг или Церебролизин (2,5 мл/кг), меньшее число крыс посещало темный отсек, что объясняется нейропротектив-

***Таблица 3*. Среднее время захода и число животных с ХНМК, зашедших в темный отсек установки УРПИ (с, M±m)**
***Table 3*. Entry latency and the number of animals entered in dark compartment with the electric floor in the Passive avoidance task (s, M±m)**

Группа	Латентный период захода в темный отсек					
	обучение	до операции	до лечения	период после начала лечения		
				1-й	2-й	3-й
Интактная (*n*=15)	41±6,9	180±0,0	180±0,0	180,0±0,00	180,0±0,00	180,0±0,00
Плацебо (*n*=13)	37±8,4	180±0,0	134±20,0#	121,0±21,6#	104,8±23,5#	84,5±22,2#
N	13	0	4	5	6	8
Кортексин (0,3 мг/кг; n=14)	33±6,2	180±0,0	149±16,8	149,1±16,5	147,7±17,4	140,0±18,0
N	14	0	3	3	3	4
Кортексин (1 мг/кг; *n*=15)	38±5,7	180±0,0	149±16,4	160,1±13,7	159,7±13,9	168,5±11,5*
N	15	0	3	2	2	1
Кортексин (3 мг/кг; *n*=14)	45±10,2	180±0,0	151±16,3	156,6±15,9	158,6±14,6	169,1±10,9*
N	14	0	3	2	2	1
Церебролизин (0,83 мл/кг; *n*=15)	30±9,2	180±0,0	141±17,3	141,7±17,0	138,2±18,9	117,1±21,0
N	15	0	4	4	4	6
Церебролизин (2,5 мл/кг; *n*=15)	49±9,8	180±0,0	139±18,5	168,5±11,5	171,9±8,1	167,9±12,1*
N	15	0	4	1	1	1
Церебролизин (7,5 мл/кг; *n*=13)	47±12,4	180±0,0	146±17,9	156,8±15,7	154,5±17,2	152,5±18,6
N	13	0	3	2	2	2
Актовегин (5 мл/кг; *n*=15)	55±10,6	180±0,0	140±18,0	143,7±16,4	129,4±19,3	126,7±20,3
n	15	0	3	4	5	5

Примечание. N — количество животных, зашедших в темный отсек.
Notes. N — number of animals entered in dark compartment.

***Таблица 4*. Среднее время решения задачи в ТЭИ животными с ХНМК на всех этапах исследования (с, M±m)**
***Table 4*. Escape latency in the Active avoidance task (Extrapolation escape test) at all stages of the study (s, M±m)**

Группа	Латентный период подныривания					
	обучение	до операции	до лечения	период после начала лечения		
				1-й	2-й	3-й
Интактная (*n*=15)	15,5±4,61	9,5±2,81	3,3±0,50	3,9±0,60	3,3±0,51	3,3±0,50
Плацебо (*n*=13)	14,8±4,19	11,0±2,83	11,9±3,28#	9,9±1,10#	7,7±0,52#	5,5±0,98
Кортексин (0,3 мг/кг; *n*=14)	17,9±3,85	9,7±3,40	9,9±4,62	3,9±0,62*	5,5±1,34	4,7±0,85
Кортексин (1 мг/кг; *n*=15)	15,8±6,13	13,0±4,48	11,0±4,64	3,6±0,52*	3,3±0,36*	3,9±0,57
Кортексин (3 мг/кг; *n*=14)	16,6±5,67	11,4±4,11	10,8±5,64	4,3±0,66*	4,5±0,60*	3,4±0,61
Церебролизин (0,83 мл/кг; *n*=15)	20,3±4,58	13,1±2,79	9,2±3,95	4,6±1,05*	5,5±0,57	4,4±0,66
Церебролизин (2,5 мл/кг; *n*=15)	13,9±4,09	10,6±3,15	9,4±4,11	3,7±1,13*	3,2±0,53*	3,9±0,79
Церебролизин (7,5 мл/кг; *n*=13)	18,7±10,19	11,8±4,63	10,5±3,91	4,8±1,08*	3,7±0,55*	4,0±0,89
Актовегин (5 мл/кг; *n*=15)	15,4±4,16	11,2±2,91	8,7±2,87	7,4±1,99	4,5±0,81*	4,6±0,74

ным действием препаратов, препятствующим повреждению ГМ и стиранию негативного опыта, приобретенного на этапе обучения.

В ТЭИ через 10 дней лечения значимо меньшее время решения экстраполяционной задачи наблюдалось в группах, которым вводили Кортексин или Церебролизин во всех исследуемых дозах. При повторении ТЭИ после отмены лечения значимые различия во времени подныривания наблюдались в группах, получавших Кортексин или Церебролизин в средних или высоких дозах, а также Актовегин. Тестирование животных в конце повторного курса лечения не выявило статистически значимых различий между группами, что, очевидно, связано с закреплением навыка избавления от аверсивной среды и, возможно, с адаптацией к ней.

Таким образом, результаты выполнения тестов ВЛМ, УРПИ и ТЭИ свидетельствуют о нарушении процессов формирования и сохранения памятного следа, кратковременной и долговременной памяти у животных с ХНМК. Кортексин, Церебролизин и в меньшей степени Актовегин отчетливо улучшают состояние памяти у животных с ХНМК.

Оценка показателей мозгового кровотока у животных с ХНМК

В основе нейропротективного действия исследуемых препаратов может лежать их влияние на гемоциркуляцию в ГМ. Показатели мозгового кровотока у всех животных со стенозом ВСА были ниже, чем у интактных **(табл. 5)**. Таким образом, курсовое введение препаратов Кортексин, Церебролизин и Актовегин не влияет на мозговое кровообращение у животных с ХНМК, а положительное влияние на состояние памяти связано с нейротрофическими и нейрометаболическими эффектами препаратов.

Результаты морфологического исследования гиппокампа животных с ХНМК

Морфологический анализ структур гиппокампа позволил выявить слабые и умеренно выраженные изменения. В полях СА1 и СА3 дорсального и вентрального гиппокампа выявлены слабые пикноморфные изменения единичных пирамидальных нейронов. Плотность поврежденных нейронов у животных группы плацебо была выше в СА1 и СА3 полях гиппокампа, однако достоверные отличия от группы интактных животных были зафиксированы только в СА1.

Анализ морфологических изменений гиппокампа крыс с ХНМК, которым вводили Кортексин, позволил выявить нарастание нейропротективного эффекта по мере увеличения дозы препарата. Терапия Кортексином в дозе 0,3 мг/кг не оказала влияния на характер и выраженность нейродистрофических процессов. Кортексин в дозе 1 и 3 мг/кг способствовал уменьшению количества поврежденных нейронов в соматосенсорной области церебральной коры и нормализации цитоархитектоники СА1 поля гиппокампа.

При изучении ГМ животных, которым вводили Церебролизин в дозе 7,5 мл/кг, плотность поврежденных нейронов в области СА1 гиппокампа была наименьшей, что свидетельствует о его протективном действии. Наиболее значимое церебропротективное действие оказали Кортексин в дозах 1 или 3 мг/кг и Церебролизин в дозе 7,5 мл/кг **(табл. 6)**. Результаты морфологического исследования отражают отдаленные последствия, связанные со снижением мозгового кровотока, и позволяют объяснить поведение животных в стандартных тестах, в которых типичными и наиболее очевидными нарушениями функционирования ГМ являлось нарушение памяти. Более выраженные нарушения памяти у животных контрольной группы (плацебо) и ее большая сохранность у животных, получавших Кортексин, Церебролизин и в меньшей степени Актовегин, могут являться следствием меньших структурных изменений ГМ.

***Таблица 5*. Уровень кровотока в бассейне СМА у животных с ХНМК после курсового лечения (мл/100 г/мин, M±m)**

***Table 5*. Cerebral blood flow level in middle cerebral artery basin in rats with chronic brain ischemia after course treatment (mL/100 g/min, M±m)**

Группа	ХНМК	Δ% от группы плацебо
Интактная	42,1±2,1	+28
Плацебо	30,3±1,3#	—
Кортексин		
0,3 мг/кг	35,1±1,8	+16
1 мг/кг	34,9±1,6	+15
3 мг/кг	30,3±1,7	0
Церебролизин		
0,83 мл/кг	34,9±1,9	+15
2,5 мл/кг	35,1±2,1	+16
7,5 мл/кг	33,1±1,8	+9
Актовегин (5 мл/кг)	36,7±2,5	+21

Примечание. # — различия достоверны по сравнению с интактной группой, $p<0,05$, односторонний ANOVA-тест с поправкой Бонферрони *post hoc*.
Note. # — differences are statistically significant in comparison with the Intact group at $p<0.05$, One-way ANOVA with Bonferroni *post hoc* test.

Заключение

В проведенном эксперименте у лабораторных крыс моделировали 50% стеноз ОСА, который явился причиной ХНМК, что было показано при оценке уровня локального мозгового кровотока, который был в среднем на 28% ниже, чем у интактных животных. Длительная ишемия ГМ, очевидно, стала причиной нарушений памяти: у животных хуже формировались и сохранялись памятный след, пространственная память, что было подтверждено результатами оценки их поведения в тестах ВЛМ, УРПИ и ТЭИ, а также большим количеством измененных нейронов и меньшим — неизмененных в зонах СА1 и СА3 гиппокампа.

Введение Кортексина снижало выраженность нарушений памяти у животных с ХНМК. Церебропротекторный эффект Кортексина был наиболее выражен в дозах 1 и 3 мг/кг, был сопоставим с таковым у Церебролизина в дозах 2,5 и 7,5 мл/кг и незначительно превышал таковой у Актовегина (5 мл/кг). Положительный эффект введения Кортексина

***Таблица 6*. Морфологическая характеристика дегенеративных изменений гиппокампа (%, M±m)**

***Table 6*. Morphological characteristics of neurodegenerative changes in neurons in various regions of the hippocampus (%, M±m)**

Группа	Структуры гиппокампа и степень морфологических изменений					
	CA1			CA3+CA4		
	НН	СН	ГН	НН	СН	ГН
Интактная (n=7)	97,89±0,11*	2,11±0,11*	—	96,96±0,48	3,04±0,48	—
Плацебо (n=7)	95,09±1,09#	4,91±1,09#	—	92,33±3,7#	7,67±3,7#	—
Кортексин						
0,3 мг/кг (n=7)	95,76±0,59	4,24±0,59	—	94,37±1,29	5,63±1,29	—
1 мг/кг (n=7)	96,78±1,05	3,22±1,05	—	93,63±1,63	6,37%±1,63	—
3 мг/кг (n=7)	97,25±0,83*	2,75±0,83*	—	92,43±2,77	7,57±2,77	—
Церебролизин						
0,83 мл/кг (n=8)	96,28±1,03	3,72±1,03	—	93,43±2,31	6,57±2,31	—
2,5 мл/кг (n=7)	95,99±0,89	4,01±0,89	—	96,16±0,55	3,84±0,55	—
7,5 мл/кг (n=6)	97,94±0,51*	2,06±0,51*	—	96,18±0,75	3,82±0,75	—
Актовегин (5 мл/кг; n=7)	96,77±1,04	3,23±1,04	—	94,88±0,73	5,12±0,73	—

Примечание. # — различия статистически значимы в сравнении с интактной группой при $p<0,05$, критерий Манна—Уитни; * — различия статистически значимы в сравнении с группой плацебо при $p<0,05$, критерий Манна—Уитни.
Note. # — differences are statistically significant in comparison with the Intact group at $p<0.05$, Mann—Whitney test; * — the differences are statistically significant compared with the placebo group at $p<0.05$, the Mann—Whitney test.

сохранялся после 10-дневной отмены препарата и усиливался после повторного курса лечения. Курсовое введение Кортексина приводило к снижению выраженности нейродистрофических процессов в СА1 и СА3 гиппокампа у животных с ХНМК. У животных, получавших лечение, уровень мозгового кровотока был выше, но различия с показателями животных, которым вводили плацебо, не достигали статистической значимости.

Необходимо отметить, что при сопоставимой эффективности Кортексин в настоящем исследовании применялся в гораздо меньших дозах, чем Церебролизин или Актовегин, что имеет важное значение с точки зрения безопасности и стоимости лечения. Это важно, учитывая социально-экономическую характеристику лиц группы риска или частую инвалидизацию пациентов, перенесших острое или хроническое нарушение мозгового кровообращения.

Исследование выполнено при финансовой поддержке ЗАО «Фарм-Холдинг»

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

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCE

1. Бережная С.В., Якупов Э.З., Захаров Ю.А. Эффективность комбинированной терапии мексидолом и церебролизином хронической ишемии головного мозга. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2016;116(5):23-27.
Berezhnaya SV, Yakupov EZ, Zaharov YuA. The efficacy of combination therapy with mexidol and cerebrolysin in chronic cerebral ischemia. *Zh Nevrol Psikhiatr Im SS Korsakova*. 2016;116(5):23-27. (In Russ.).
https://doi.org/10.17116/jnevro20161165123-27
2. Гомазков О.А. Кортексин: молекулярные механизмы и мишени нейропротективной активности. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. орсакова*. 2015;115(8):99-104.
Gomazkov OA. Cortexin. Molecular mechanisms and targets of neuroprotective activity. *Zh Nevrol Psikhiatr Im SS Korsakova*. 2015;115(8):99-104. (In Russ.).
https://doi.org/10.17116/jnevro20151158199-104
3. Masliah E, Díez-Tejedor E. The pharmacology of neurotrophic treatment with Cerebrolysin: brain protection and repair to counteract pathologies of acute and chronic neurological disorders. *Drugs Today (Barc)*. 2012;48(Suppl A):3-24.
4. Zhang Y, Chopp M, Zhang ZG, Zhang Y, Zhang L, Lu M, Zhang T, Winter S, Doppler E, Brandstäetter H, Mahmood A, Xiong Y. Cerebrolysin Reduces Astrogliosis and Axonal Injury and Enhances Neurogenesis in Rats After Closed Head Injury. *Neurorehabil Neural Repair*. 2019;33(1):15-26.
https://doi.org/10.1177/1545968318809916
5. Guekht A, Skoog I, Edmundson S, Zakharov V, Korczyn AD. ARTEMIDA Trial (A Randomized Trial of Efficacy, 12 Months International Double-Blind Actovegin): A Randomized Controlled Trial to Assess the Efficacy of Actovegin in Poststroke Cognitive Impairment. *Stroke*. 2017;48(5):1262-1270.
https://doi.org/10.1161/strokeaha.116.014321
6. Derev'yannykh EA, Bel'skaya GN, Knoll EA, Krylova LG, Popov DV. Experience in the use of Actovegin in the treatment of patients with cognitive disorders in the acute period of stroke. *Neurosci Behav Physiol*. 2008;38(8):873-875.
https://doi.org/10.1007/s11055-008-9051-0
7. Elmlinger MW, Kriebel M, Ziegler D. Neuroprotective and anti-oxidative effects of the hemodialysate actovegin on primary rat neurons in vitro. *Neuromolecular Med*. 2011;13(4):266-274.
https://doi.org/10.1007/s12017-011-8157-7
8. Meilin S, Machicao F, Elmlinger M. Treatment with Actovegin improves spatial learning and memory in rats following transient forebrain ischaemia. *J Cell Mol Med*. 2014;18(8):1623-1630.
https://doi.org/10.1111/jcmm.12297
9. Куркин Д.В., Тюренков И.Н., Морковин Е.И., Осадченко Н.А., Верхоляк Д.В., Петров В.И. Поведенческое фенотипирование крыс при экспериментальном моделировании хронического нарушения мозгового кровообращения. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2017;117(7):69-73.
Kurkin DV, Morkovin EI, Verkholiak DV, Osadchenko NA, Tyurenkov IN, Petrov VI. Behavioral phenotyping in rats during the experimental modeling of chronic cerebral circulation disorder. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 2017;117(7):69-73. (In Russ.).
https://doi.org/10.17116/jnevro20171177169-73
10. Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc*. 2006;1(2):848-858.
https://doi.org/10.1038/nprot.2006.116
11. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Часть первая. Под ред. Миронова А.Н. М.: «Гриф и К», 2012;944.
Guidelines for Preclinical Trials of Medicinal Products. Mironov AN, ed. Part 1. Moscow: «Grif i K»; 2012;944. (In Russ.).
12. Zhang Y, Chopp M, Gang Zhang Z, Zhang Y, Zhang L, Lu M, Zhang T, Winter S, Brandstätter H, Mahmood A, Xiong Y. Prospective, randomized, blinded, and placebo-controlled study of Cerebrolysin dose-response effects on long-term functional outcomes in a rat model of mild traumatic brain injury. *J Neurosurg*. 2018;129(5):1295-1304.
https://doi.org/10.3171/2017.6.jns171007
13. Zarubina IV, Shabanov PD. Neuroprotective Effects of Peptides during Ischemic Preconditioning. *Bull Exp Biol Med*. 2016;160(4):448-451.
https://doi.org/10.1007/s10517-016-3193-9
14. Meilin S, Machicao F, Elmlinger M. Treatment with Actovegin improves spatial learning and memory in rats following transient forebrain ischaemia. *J Cell Mol Med*. 2014 Aug;18(8):1623-1630.
https://doi.org/10.1111/jcmm.12297

Поступила 21.05.2020
Received 21.05.2020
Принята к печати 22.06.2020
Accepted 22.06.2020