

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.9>**ПРИМЕНЕНИЕ ИНГИБИТОРОВ ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ-2 ТИПА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ**

Научная статья

Вечканова Н.А.¹, Хандогина А.Д.²*, Белова О.А.³, Леминг В.Г.⁴, Косолапова Д.А.⁵, Юртаев А.А.⁶, Васина А.П.⁷, Парфёнова Я.А.⁸, Старчкова И.В.⁹, Иванкин В.А.¹⁰, Волгушкина М.С.¹¹^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11} Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева, Саранск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (alya.khandogina.01[at]mail.ru)

Аннотация

В настоящей работе мы исследовали эффекты теноксикама, нестероидного противовоспалительного средства (НПВС) и ингибитора активности циклооксигеназы-2, на повреждение мозга, вызванное экспериментальной моделью ишемии-реперфузии у крыс. Применение теноксикама снизило активность миелопероксидазы (МПО) до контрольных уровней, так в группе 3 уровень МПО составил $0,037 \pm 0,001$ единиц, что статистически значимо ниже в сравнении с группой 2 на 80,3%, ($p < 0,001$). Наши результаты показали, что через 24 часа после реперфузии происходит значимое повышение активности МПО. Реверсия этого повышения в группах 3 и 4 снизило активность МПО до контрольных уровней, что подтверждает гипотезу о том, что воспаление тесно связано с ишемическим повреждением.

Ключевые слова: «Теноксикам», ишемия, реперфузия.**APPLICATION OF TYPE-2 CYCLOOXYGENASE INHIBITORS IN AN EXPERIMENTAL ISCHAEMIA-REPERFUSION MODEL**

Research article

Vechkanova N.A.¹, Khandogina A.D.²*, Belova O.A.³, Leming V.G.⁴, Kosolapova D.A.⁵, Yurtaev A.A.⁶, Vasina A.P.⁷, Parfyonova Y.A.⁸, Starchkova I.V.⁹, Ivankin V.A.¹⁰, Volgushkina M.S.¹¹^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11} National Research Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

* Corresponding author (alya.khandogina.01[at]mail.ru)

Abstract

In the present work, we studied the effects of tenoxicam, a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) and an inhibitor of cyclooxygenase-2 activity, on brain damage induced by an experimental model of ischaemia-reperfusion in rats. Tenoxicam application decreased myeloperoxidase (MPO) activity to control levels, so in group 3 MPO level was 0.037 ± 0.001 units, which was statistically significantly lower compared to group 2 by 80.3%, ($p < 0.001$). Our results showed that 24 hours after reperfusion, there is a significant increase in MPO activity. Reversal of this increase in groups 3 and 4 decreased MPO activity to control levels, supporting the hypothesis that inflammation is closely related to ischaemic injury.

Keywords: "Tenoxicam", ischaemia, reperfusion.**Введение**

Проблема лечения последствий ишемии головного мозга остается актуальной и сегодня. Продукты распада циклооксигеназы (ЦОГ) участвуют в механизмах, посредством которых постишемическое воспаление способствует повреждению мозга [1], [2]. Недавние данные показали, что продукты распада ЦОГ-2 и активные формы кислорода при экспериментальной церебральной ишемии усугубляют каскад ишемического повреждения [2], а индуцируемая изоформа ЦОГ-2 способна инициировать повреждение нейронов (в свою очередь, введение ингибиторов ЦОГ-2 уменьшает объем инфаркта при экспериментальной ишемии). Вазоактивные вещества, такие как арахидоновая кислота и тромбоксан А₂, активируются рециркулирующими тромбоцитами, которые могут вторично инициировать повреждение эндотелиальных клеток [3], [4]. Основным интерес к механизмам вторичного повреждения мозга после реперфузии заключается в том, что этот период является потенциальным терапевтическим окном. Доступный и эффективный метод лечения острого ишемического инсульта в настоящее время – тромболизис, может вызвать дальнейшее повреждение тканей посредством механизмов, вовлеченных в реперфузионное повреждение, которые частично или полностью устраняют преимущества самой реперфузии. Недавнее исследование показало, что в зависимый от ЦОГ-2 компонент повреждения, опосредованный, NMDA-рецепторами напрямую вовлекаются простагландины, активированные продуктами распада ЦОГ-2, а не радикалы [1], данная теория свидетельствует в пользу применения ингибиторов ЦОГ-2 при лечении неврологических заболеваний, связанных с нейротоксичностью. В настоящей работе мы исследовали эффекты теноксикама, нестероидного противовоспалительного средства (НПВС) и ингибитора активности ЦОГ-2, на повреждение мозга, вызванное экспериментальной моделью ишемии-реперфузии у крыс.

Методы и принципы исследования

В эксперименте участвовали 40 животных (нелинейные белые крысы массой 220-305 г.). Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных [5]. Животным выполнен наркоз, включающий интраперитонеальное (и/п) введение препаратов: «Ксилазин» (0,5 мг/кг

массы тела) и «Золетил 100» (8мг/кг массы тела). Животные были разделены на 4 группы: 1-ая группа (n=10) – ложнооперированные животные, оперативное пособие заключалось в обеспечении доступа к средней мозговой артерии (СМА), при этом окклюзия СМА не производилась, послеоперационная рана накрывалась стерильной салфеткой, и через 45 минут, ушивалась. 2-ая группа (n=10) – инсульт (окклюзия СМА); животным выполнялась 45-минутная окклюзия СМА по методике J. Koizumi (1986), оперативное пособие включающее окклюзию СМА на 45 минут [6], [7], с последующей реперфузией; эта процедура также проводилась в группах 3 и 4. 3-ья группа (n=10) – инсульт (окклюзия СМА) + теноксикам (2,5 мг/кг массы тела), данный препарат вводился в период реперфузии, через 45 минут от начала эксперимента. 4-я группа (n=10) – инсульт (окклюзия СМА) + теноксикам (10 мг/кг массы тела), данный препарат вводился в период реперфузии через 45 минут от начала эксперимента. Таблетки «Теноксикам» (ПРОМОМЕД РУС), предварительно таблетки измельчались до порошка, и необходимую дозу, в зависимости от веса животных разводили в растворе NaCl 0,9%-2мл и вводили и.п. Через 24 часа с момента реперфузии крыс декапитуировали, мозг препарировали и удаляли гиппокамп для биохимических измерений. Проводили измерение активности миелопероксидазы (МПО), по методике, описанной Д. В. Григорьевой (2016) [8]. Для гистологической оценки мозг фиксировали в 10% растворе формалина, проводили через спиртовую серию, ткани заливали в парафин, микротомом делали срезы и окрашивали гематоксилином и эозином, и тионином по Нисслю, делали микрофотографии, отцифровывали их и оценивали изменения. Для статистической обработки был применен t-критерия Стьюдента и критерий Манна-Уитни. Результаты представлены следующим образом, $M \pm m$ (M – среднее, m – ошибка среднего). Данные принимались за статистически значимые при $p < 0,01$ [6].

Основные результаты и их обсуждение

МПО – маркер инфильтрации нейтрофилов, представитель гем-содержащих пероксидаз. Продукты МПО – гипогалоидные кислоты и феноксильные радикалы – являются сильными окислителями, которые могут повреждать белковые структуры клеток и тканей хозяина. Активность фермента миелопероксидазы проводилась для оценки возможного нейропротекторного эффекта теноксикама в условиях ишемии. В группе 1 активность МПО составила $0,031 \pm 0,005$ Единиц, в группе 2 - $0,188 \pm 0,029$ Единиц, ($p < 0,001$). Применение теноксикама снизило активность МПО до контрольных уровней, так в группе 3 уровень МПО составил $0,037 \pm 0,001$ Единиц, что статистически значимо ниже в сравнении с группой 2 на 80,3%, ($p < 0,001$). В группе 4 уровень МПО составил $0,034 \pm 0,001$ единиц, что статистически значимо ниже в сравнении с группой 2 на 81,9%, ($p < 0,001$). Статистически значимой разницы между группами 3 и 4 выявлено не было, что, в свою очередь, говорит об отсутствии зависимости доза-эффект в условиях данного эксперимента. Окклюзия СМА вызвала поражения полосатого тела и гиппокампа, однако полосатое тело было подвержено изменениям в большей степени. После окклюзии СМА тела нейронов имели полигональную сморщенную форму, присутствовала эозинофильная инфильтрация [9], [10], у таких аномальных клеток были пикнотические ядра. Нейропил окрашивался несколько бледнее и имел участки микровакуолизации и зоны периваскулярного отека, отмечались участки коагуляционного некроза. Лечение животных теноксикамом (10 мг/кг) значимо нивелировало поражения, вызванные ишемией, в группе 4 у всех животных были только легкие поражения по сравнению с группой 2. Гиппокамп и, в основном, область гиппокампа СА1 являются наиболее восприимчивой к ишемии мозга. Основные изменения: наличие интенсивной вакуолизации, наблюдаемой после ишемии и частичной реверсии после лечения теноксикамом. В группе 2 граница зоны инфаркта с окружающими тканями была резкой. В некротической ткани наблюдались остатки клеток на разных стадиях цитолиза — «клеточные тени». В пограничной зоне инфаркта обнаруживалась нейтрофильная инфильтрация и единичные макрофаги (рис.1).

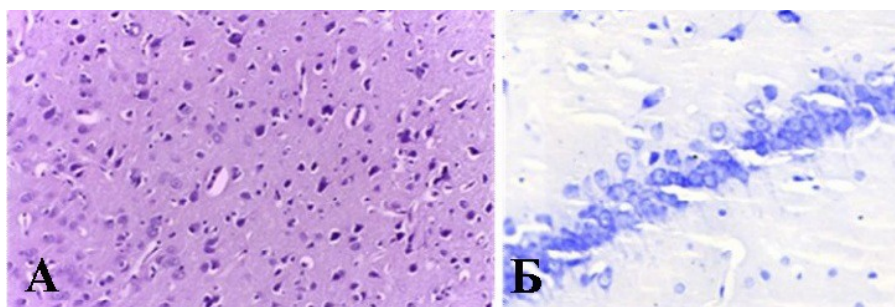


Рисунок 1 - Пример гистологического препарата головного мозга крысы из группы №2:

А - лобная доля, окраска гематоксилин+эозин, X 400; Б – СА1 область гиппокампа, окраска тионином по Нисслю, X 400

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.9.1>

Заключение

Наши результаты показали, что через 24 часа после реперфузии происходит значимое повышение активности МПО. Реверсия этого повышения в группах 3 и 4 снизило активность МПО до контрольных уровней, что подтверждает гипотезу о том, что воспаление тесно связано с ишемическим повреждением. Теноксикам – тиенотиазинное производное оксикама, ингибирует активность ЦОГ и блокирует образование продуктов распада арахидоновой кислоты (АК), косвенно снижая инфильтрацию нейтрофилов и, следовательно, влияет на ослабление продукции активных форм кислорода, фактора активации тромбоцитов, подавляет синтез простагландинов, цитокинов, хемокинов и лизосомальных ферментов, и уменьшает содержание активных радикалов в очаге воспаления.

В целом полученные нами данные показывают, что ишемия мозга, безусловно, связана с воспалением и повышенным образованием свободных радикалов, и применение теноксикама с целью ингибирования ЦОГ, подавления синтеза простагландинов в условиях ишемии/реперфузии целесообразно, но требуется дальнейшее проведение исследований.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Xu Y. COX-2/PGE2 Pathway Inhibits the Ferroptosis Induced by Cerebral Ischemia Reperfusion / Y. Xu, Y. Liu, K. Li [et al.] // *Mol Neurobiol.* — 2022. — № 59 (3). — P. 1619–1631.
2. Zhao L.Q. Neuroprotection of Oral Edaravone on Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats / L.Q. Zhao, A. Parikh, Y.X. Xiong // *Neurotoxicity Research.* — New York: Neurotoxicity Research, 2022. — Iss. 4. — P. 995–1006.
3. Alfke K. Cerebral Ischemia / K. Alfke, O. Jansen // *Radiologe.* — 2014. — № 18. — P. 100–121.
4. Morris G.P. Comparative Study of Variables Influencing Ischemic Injury in the Longa and Koizumi Methods of Intraluminal Filament Middle Cerebral Artery Occlusion in Mice / G.P. Morris, A.L. Wright, R.P. Tan [et al.] // *PLOS One.* — 2016. — № 12. — P. 148–148.
5. Appendix A to the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123): Guidelines for accommodation and care of animals (Article 5 of the Convention) // Council of Europe. — 2006. — URL: <https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list?module=treaty-detail&treaty-num=123> (accessed: 17.09.2024).
6. Ivashin A.A. Study of hemodynamic features and some coagulogram parameters against the background of liposomal heparin use in cerebral ischemia in rats in an experiment / A.A. Ivashin, D.M. Korobkov, A.M. Mashtakova [et al.] // *International Research Journal.* — 2023. — № 6 (132). — DOI: 10.23670/IRJ.2023.132.83.
7. Koizumi J. Experimental Studies of Ischemic Brainedema. I: a New Experimental Model of Cerebral Embolism in Rats in Which Recirculation Can Be Introduced in the Ischemic Area / J. Koizumi // *Journal of Stroke.* — 1986. — № 8. — P. 1–8.
8. Grigorieva D.V. Myeloperoxidase stimulates neutrophil degranulation / D.V. Grigorieva, I.V. Gorudko, A.V. Sokolov [et al.] // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* — 2016. — Vol. 161. — № 4. — P. 483–488.
9. Altintas O. Neuroprotective Effects of Chronic Fenofibrate Treatment via Modulating the Immunoreactivity of Cleaved Caspase-3 in Stroke Induced by Transient Middle Cerebral Artery Occlusion Rat Model / O. Altintas, M.O. Altintas, M.S. Aydin // *Turkish Neurosurgery.* — 2017. — № 27. — P. 522–529.
10. Daineko A.S. Methods for Assessing Neurological Deficit in Rats after 30-Minute Focal Cerebral Ischemia in the Early and Late Stages of the Posts ischemic Period / A.S. Daineko, A.A. Shmonin, A.V. Shumeeva // *Regional Circulation and Microcirculation.* — 2014. — № 13. — P. 68–78.