

УДК 616.831-005.4:615.214

DOI 10.20538/1682-0363-2017-1-65–72

Для цитирования: Осипенко А.Н., Плотникова Т.М., Чернышева Г.А., Смольякова В.И. Механизмы нейропротективного действия *n*-тирозола в условиях тотальной транзиторной ишемии-реперфузии головного мозга. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (1): 65–72

## Механизмы нейропротективного действия *n*-тирозола в условиях тотальной транзиторной ишемии-реперфузии головного мозга

Осипенко А.Н.<sup>1</sup>, Плотникова Т.М.<sup>1</sup>, Чернышева Г.А.<sup>2</sup>, Смольякова В.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга (НИИФирМ им. Е.Д. Гольдберга),  
Томский национальный исследовательский медицинский центр (ТНИМЦ) Российской академии наук (РАН)  
Россия, 634028, г. Томск, ул. Ленина, 3

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования** – изучить механизмы нейропротективного действия *n*-тирозола в условиях острой глобальной ишемии-реперфузии головного мозга у крыс.

**Материал и методы.** Исследование выполнено на 30 аутобредных крысах-самцах сток Wistar массой 220–240 г. Животные были разделены на три группы по 10 крыс в каждой. В контрольной и опытной группах модель ишемии-реперфузии головного мозга воспроизводилась путем трехсосудистой окклюзии, животные ложнопериорированной группы подвергались тем же хирургическим манипуляциям, но без наложения лигатур на сосуды.

Животным опытной группы ежедневно в течение 5 сут вводили внутривенно *n*-тирозол в дозе 20 мг/кг в виде 2% -го раствора, ложнопериорированные крысы и животные контрольной группы получали физиологический раствор по той же схеме. На 5-е сут после ишемии-реперфузии головного мозга оценивали реологические параметры крови и содержание продуктов перекисного окисления липидов в мозговой ткани.

**Результаты.** Острая ишемия-реперфузия головного мозга у крыс контрольной группы вызывала существенные нарушения реологических свойств крови – возрастала вязкость цельной крови и плазмы, уменьшался полупериод агрегации эритроцитов и индекс деформируемости эритроцитов. Повышение вязкости крови приводило к уменьшению индекса доставки кислорода к тканям. В ткани мозга контрольной группы увеличивались содержание диеновых и триеновых конъюгатов, оснований Шиффа и индекс окисленности липидов. Эти нарушения приводили к гибели 50% животных контрольной группы. *n*-Тирозол при его внутривенном введении животным опытной группы снижал вязкость крови на 19–31%, вязкость плазмы – на 6% и увеличивал деформируемость эритроцитов на 31–40%, что повышало коэффициент доступности кислорода для тканей мозга на 21–31% по сравнению с показателями животных контрольной группы. Содержание диеновых, триеновых конъюгатов и оснований Шиффа в ткани мозга при курсовом введении *n*-тирозола уменьшалось соответственно на 37%, 49 и 45%, что отражалось на снижении индекса окисленности липидов на 38% в сравнении с контролем. Число выживших животных в опытной группе было в 1,7 раза больше по сравнению с контролем.

**Заключение.** *n*-Тирозол при его курсовом введении крысам с острой ишемией-реперфузией головного мозга ослабляет интенсивность окислительного стресса в мозговой ткани и снижает повышенную вяз-

✉ Осипенко Антон Николаевич, e-mail: osipenko-an@mail.ru.

кость крови. Результатом этих эффектов явилось ослабление последствий ишемии-реперфузии головного мозга и увеличение выживаемости животных, что подтверждает нейропротективное действие *n*-тирозола в этих условиях.

**Ключевые слова:** *n*-тирозол, ишемия головного мозга, реперфузионный синдром, вязкость крови, окислительный стресс, нейропротективный эффект, антиоксидантный эффект.

## ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным ВОЗ, цереброваскулярные заболевания являются ведущей причиной инвалидизации, а также второй причиной деменции и смертности в мире. Наиболее распространенной и разрушительной формой нарушения церебрального кровообращения является ишемический инсульт [1]. Основным направлением лечения острого ишемического инсульта с клинически доказанной эффективностью является тромболитическая терапия. Однако возобновление кровотока в зоне ишемии сопровождается окислительным стрессом [2], процессами перекисидации липидов мембран [3] и расстройствами микроциркуляции [4], то есть формированием «реперфузионного синдрома» [5]. Следовательно, окислительный стресс играет ключевую роль в повреждении ткани мозга при ишемии-реперфузии. В условиях окислительного стресса происходит также повреждение мембранных белков и липидов эритроцитов, ослабляется их деформируемость, что приводит к повышению вязкости крови [6]. Решение проблемы нейропротекции при ишемии-реперфузии мозга может быть достигнуто с помощью соединений, обладающих антиоксидантной и гемореологической активностью. В качестве средств с указанными свойствами наибольшего внимания заслуживают растительные полифенолы [7], одним из представителей которых является *n*-тирозол, обладающий широким спектром фармакологической активности и хорошей биодоступностью, обеспечивающей его способность интенсивно проникать в органы с высокой степенью васкуляризации [8].

Цель исследования – изучить механизмы нейропротективного действия *n*-тирозола в условиях острой глобальной ишемии-реперфузии головного мозга у крыс.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты были выполнены на 30 аутобредных крысах-самцах сток Wistar массой 220–240 г. Животные были разделены на три группы по 10 крыс в каждой. Модель тотальной транзиторной ишемии головного мозга (ТТИГМ) воспроизво-

дили по методу трехсосудистой окклюзии [9]. Ложнооперированным крысам (выполнены все хирургические манипуляции, но без окклюзии сосудов) и крысам контрольной группы вводили по 1 мл физиологического раствора, крысам опытной группы вводили *n*-тирозол в дозе 20 мг/кг в виде 2%-го раствора. Физиологический раствор и *n*-тирозол вводили внутривенно один раз в сутки в течение 5 сут после оперативного вмешательства, первое введение препаратов проводили на 25-й мин после наложения окклюдеров.

Для оценки гемореологических параметров под эфирным наркозом проводили забор проб цельной крови из общей сонной артерии крыс спустя 5 сут после ишемии. Кровь стабилизировали 3,8%-м раствором натрия цитрата в соотношении 9 : 1. Вязкость цельной крови определяли на ротационном вискозиметре LVDV-II+CP (США) в диапазоне скоростей сдвига 3–300 с<sup>-1</sup>, вязкость плазмы – при скорости сдвига 300 с<sup>-1</sup> [10]. Гематокрит определяли с помощью капиллярной центрифуги МГЦ-8 (Россия) и выражали в % [11]. Агрегацию и деформируемость эритроцитов определяли на приборе RheoScan-AnD300 (Республика Корея). Доступность кислорода для тканей оценивали по соотношению гематокрит : вязкость крови на высоких скоростях сдвига (50–300 с<sup>-1</sup>) [4].

Определение продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) проводили стандартными методами [12]. Содержание диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) определяли по характерным для сопряженных двойных связей пикам поглощения при 232 и 275 нм соответственно [13]. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Hitachi 557 (Япония). В качестве раствора сравнения использовали гексан. ДК и ТК рассчитывали в единицах оптической плотности на 1 мг липидов (ОД/мг липидов). Основания Шиффа (ОШ) определяли по методу А. Tappel [14]. Флуоресценцию измеряли на спектрофлуориметре Hitachi 850 (Япония) при возбуждении на длине волны 360 нм и эмиссии 460 нм с фильтром 390 нм. Содержание ОШ рассчитывали в относительных единицах на 1 мг липидов (ОЕ/мг липидов). Количественную оценку

содержания липидов в гексановой фазе проводили гравиметрически. Индекс окисленности (ИО) липидов оценивали по соотношению показателей оптической плотности ДК и неокисленных липидов, рассчитывали по формуле:  $ИО = OD_{232}/OD_{215}$  [15], где  $OD_{232}$  – максимум поглощения диеновых конъюгатов, а  $OD_{215}$  – максимум поглощения неокисленных липидов.

Для статистической обработки данных использовали пакет программного обеспечения Statistica 6.0. Рассчитывали среднее значение и стандартную ошибку  $M \pm m$ . Нормальность распределения оценивали при помощи критерия Колмогорова – Смирнова. Для проверки достоверности различий ( $p < 0,05$ ) между сериями применяли тест Манна – Уитни и однофакторный дисперсионный анализ ANOVA (с поправкой Бонферрони). Для анализа выживаемости использовали критерий  $\chi^2$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У животных контрольной группы на 5-е сут после ТТИГМ во всем диапазоне скоростей сдвига было отмечено возрастание вязкости крови в сравнении с показателями у группы ложнопериорированных животных. Вязкость крови на низких скоростях сдвига ( $3-10 \text{ с}^{-1}$ ) увеличивалась на 53–59%, на высоких скоростях сдвига ( $50-300 \text{ с}^{-1}$ ) – на 26–35% (рис. 1).

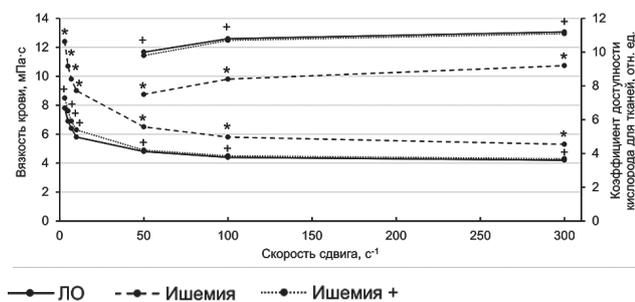


Рис. 1. Влияние *n*-тирозолола на вязкость крови (мПа·с) и коэффициент доступности кислорода для тканей на разных скоростях сдвига у крыс на 5-е сут после ТТИГМ. \*  $p < 0,05$  по сравнению с показателями ложнопериорированных животных; +  $p < 0,05$  по сравнению с показателями контрольной группы

Вязкость крови является одним из основных параметров, определяющих перфузию крови и доставку кислорода к тканям, особенно в системе микроциркуляции. В микроциркуляторном русле, где уровень гематокрита (Ht) существенно ниже (10–20%), чем в крупных сосудах [16], основными факторами, влияющими на вязкость крови, являются вязкость плазмы, агрегация и деформируемость эритроцитов [17]. После церебральной ишемии-реперфузии вязкость плазмы (ВП) у крыс контрольной группы возрастала на 11% по сравнению со значениями у ложнопериорированных животных (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Влияние <i>n</i> -тирозолола на вязкость плазмы и гематокрит у крыс на 5-е сут после ТТИГМ, $M \pm m$		
Группа животных	ВП, мПа·с	Ht, %
Ложнопериорированные ( $n = 10$ )	$1,28 \pm 0,01$	$47 \pm 1$
Контроль ( $n = 5$ )	$1,42 \pm 0,04^*$	$48 \pm 1$
<i>n</i> -Тирозол ( $n = 7$ )	$1,33 \pm 0,02^{*+}$	$48 \pm 1$

\*  $p < 0,05$  по сравнению с показателями ложнопериорированных животных; +  $p < 0,05$  по сравнению с показателями контрольной группы.

Увеличение вязкости плазмы наблюдается при многих патологических состояниях и связано с локальным повреждением ткани, развитием иммунного ответа [18], а также увеличением содержания фибриногена [19]. У животных контрольной группы, перенесших ТТИГМ, наблюдалось повышение агрегационной активности эритроцитов, выразившееся уменьшением полупериода агрегации на 50% (см. табл. 1), а также ухудшением их деформационных свойств. Индекс деформируемости эритроцитов был ниже на 29–39% относительно показателей у группы ложнопериорированных крыс при высоких скоростях сдвига (табл. 2).

Следовательно, важнейшими гемореологическими факторами, обусловившими статистически значимое повышение вязкости крови у крыс, перенесших ТТИГМ, являются гиперагрегация и нарушение вязко-эластических свойств эритроцитов, а также увеличение вязкости плазмы.

Т а б л и ц а 2

Влияние <i>n</i> -тирозолола на полупериод агрегации ( $T_{1/2}$ ) и индекс деформируемости эритроцитов при разных напряжениях сдвига у крыс на 5-е сут после ТТИГМ, $M \pm m$					
Группа животных	$T_{1/2}, \text{с}$	Индекс деформируемости эритроцитов, отн. ед.			
		1 Па	3 Па	5 Па	7 Па
Ложнопериорированные ( $n = 10$ )	$19,3 \pm 0,8$	$0,2106 \pm 0,00054$	$0,2808 \pm 0,0047$	$0,3688 \pm 0,0081$	$0,4505 \pm 0,0097$
Контроль ( $n = 5$ )	$9,6 \pm 3,2^*$	$0,1277 \pm 0,0086^*$	$0,1847 \pm 0,0229^*$	$0,2587 \pm 0,0173^*$	$0,3193 \pm 0,0187^*$
<i>n</i> -Тирозол ( $n = 7$ )	$12,0 \pm 1,5^*$	$0,1783 \pm 0,0080^{*+}$	$0,2554 \pm 0,0078^{*+}$	$0,3362 \pm 0,0135^{*+}$	$0,4187 \pm 0,0083^{*+}$

\*  $p < 0,05$  по сравнению с показателями ложнопериорированных животных;

+  $p < 0,05$  по сравнению с показателями контрольной группы.

У пациентов с острым ишемическим инсультом наблюдаются сходные нарушения гемореологических параметров – увеличивается агрегация эритроцитов, снижается их деформируемость, возрастает уровень фибриногена в плазме, что в итоге приводит к повышению вязкости крови [16]. Это свидетельствует о схожести процессов, лежащих в основе нарушения гемореологического статуса при ишемическом инсульте и при ТТИГМ, и позволяет использовать данную модель для исследования влияния *n*-тирозола на гемореологические параметры.

В свою очередь, одной из причин изменения агрегационных свойств и деформируемости эритроцитов при ишемии и реперфузии мозга может являться окислительный стресс, вызывающий повреждение мембранных белков и липидов эритроцитов. На 5-е сут после ТТИГМ в ткани головного мозга крыс контрольной группы наблюдалось возрастание содержания ДК, ТК и ОШ в 2,0; 4,5 и 2,2 раза соответственно, а также повышение индекса окисленности липидов на 77% по сравнению с показателями ложнооперированных животных (рис. 2).

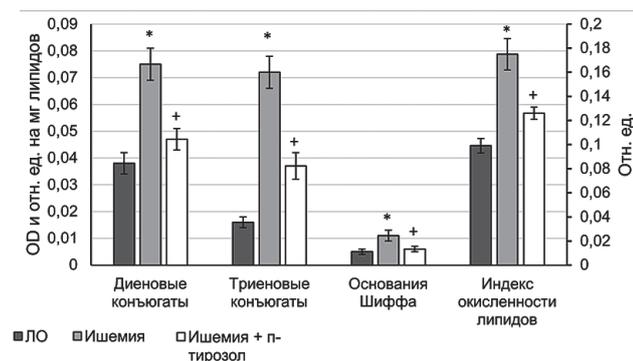


Рис. 2. Влияние *n*-тирозола на содержание диеновых конъюгатов (OD<sub>232</sub>/мг липидов), триеновых конъюгатов (OD<sub>270</sub>/мг липидов), оснований Шиффа (отн. ед./мг липидов) и индекс окисленности липидов (отн. ед.) в ткани мозга у крыс после ТТИГМ. По оси ординат слева – липиды диеновых и триеновых конъюгатов (OD/мг), оснований Шиффа (отн. ед./мг). По оси ординат справа – индекс окисленности липидов, отн. ед. \*  $p < 0,05$  по сравнению с показателями ложнооперированных животных; +  $p < 0,05$  по сравнению с показателями контрольной группы

Описанные выше изменения негативно влияют на основную функцию эритроцитов – обеспечение тканей кислородом. Данный показатель у крыс, перенесших ТТИГМ, к 5-м сут снизился на 18–25% по сравнению с показателем у ложнооперированных животных (см. рис. 1). Выживаемость животных контрольной группы составила 70% в 1-е сут и 48% – на 5-е сут после ТТИГМ.

Таким образом, у крыс, перенесших острую ишемию головного мозга с реперфузией, развивается окислительный стресс и синдром повышенной вязкости крови, снижающий доступность кислорода для тканей, что сопровождается значительной гибелью животных.

*n*-Тирозол при курсовом внутривенном введении в дозе 20 мг/кг крысам, перенесшим острую ишемию головного мозга с реперфузией, существенно улучшал реологические свойства крови. По сравнению со значениями контрольной группы наблюдалось значимое снижение вязкости крови у опытных животных на 29–31% в диапазоне низких (3–10 с<sup>-1</sup>) и на 19–25% в диапазоне высоких (50–300 с<sup>-1</sup>) скоростей сдвига (см. рис. 1). Вязкость плазмы у крыс опытной группы была на 6% ниже контрольного показателя (см. табл. 1), а полупериод агрегации эритроцитов возрастал, но не достигал уровня статистической значимости (см. табл. 2). У крыс, перенесших острую ишемию головного мозга с реперфузией, *n*-тирозол повышал деформационные свойства эритроцитов – индекс их деформируемости достоверно увеличивался на 31–40% по сравнению со значениями контрольной группы.

Поскольку нормальная деформируемость эритроцитов является необходимым условием хорошей перфузии в системе микроциркуляции [20, 21], отмеченный гемореологический эффект *n*-тирозола может обеспечить значительное повышение доставки кислорода к тканям [22]. У животных опытной группы отмечено существенное улучшение кислородтранспортной функции эритроцитов – коэффициент доступности кислорода для тканей возрастал на 21–31% по сравнению с контролем (см. рис. 1).

Перекисное окисление липидов и его продукты вносят важный вклад в повреждение клеточных структур, в том числе и эритроцитов [23]. Учитывая эти данные и сведения о высокой антиоксидантной активности *n*-тирозола [24], было оценено его влияние на процессы ПОЛ в условиях ТТИГМ у крыс. У животных, перенесших острую церебральную ишемию, *n*-тирозол ограничивал интенсивность процессов ПОЛ в ткани мозга: уровень ДК, ТК и ОШ был достоверно ниже по сравнению с показателями у контрольной группы на 37%, 49 и 45% соответственно. Индекс окисленности липидов в группе крыс, получавших *n*-тирозол, понизился на 38% относительно значений животных контрольной группы (см. рис. 2).

Антиоксидантная активность и улучшение реологических показателей под действием *n*-тирозола

положительно сказались на выживаемости животных с моделью ТТИГМ. Число выживших животных в опытной группе было в 1,4 раза больше по сравнению с показателем в контрольной группе.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

*n*-Тирозол при его курсовом введении в условиях острой ишемии-реперфузии головного мозга у крыс ослабляет интенсивность окислительного стресса в мозговой ткани, снижает повышенную вязкость крови за счет ограничения агрегационной активности эритроцитов и повышения их деформируемости, а также уменьшения вязкости плазмы. Отмеченные эффекты *n*-тирозола ослабляют последствия ишемии-реперфузии головного мозга, повышают доступность кислорода для тканей и увеличивают выживаемость животных, подтверждая нейропротективное действие препарата в условиях острой церебральной ишемии-реперфузии.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при поддержке Федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» «Доклинические исследования лекарственного средства, улучшающего реологические свойства крови в условиях ишемии/реперфузии головного мозга» (государственный контракт от 9 ноября 2012 № 14. N 08.12.0002).

## СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Все исследования были проведены в соответствии с решением комитета по этике НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга ТНИМЦ РАН (протокол № 22032012 от 22.03.2012 г.).

## ЛИТЕРАТУРА

- Béjot Y., Daubail B., Giroud M. Epidemiology of stroke and transient ischemic attacks: Current knowledge and perspectives // *Rev. Neurol. (Paris)*. 2016; 172 (1): 59–68. DOI: 10.1016/j.neurol.2015.07.013.
- Narukuni I., Bhardwaj A. Mechanisms of brain injury after global cerebral ischemia // *Neurol. Clin.* 2006; 24 (1): 1–21. DOI: 10.1016/j.ncl.2005.10.004.
- Deiana M., Corona G., Incani A., Loru D., Rosa A., Atzeri A., Paola Melis M., Assunta Dessm M. Protective effect of simple phenols from extravirgin olive oil against lipid peroxidation in intestinal Caco-2 cells // *Food Chem. Toxicol.* 2010; 48 (10): 3008–3016. DOI: 10.1016/j.fct.2010.07.041.
- Zhao H., Sapolsky R.M., Steinberg G.K. Interrupting reperfusion as a stroke therapy: Ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2006; 26 (9): 1114–1121. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600348.
- Sanderson T.H., Reynolds C.A., Kumar R., Przyklenk K., Hüttemann M. Molecular mechanisms of ischemia-reperfusion injury in brain: pivotal role of the mitochondrial membrane potential in reactive oxygen species generation // *Mol. Neurobiol.* 2013; 47 (1): 9–23. DOI: 10.1007/s12035-012-8344-z.
- Guan L., Zhang Y.L., Li Z.Y., Zhu M.X., Yao W.J., Zhao J.Y. Salvianolic acids attenuate rat hippocampal injury after acute CO poisoning by improving blood flow properties // *Biomed. Res. Int.* 2015; 2015: 526483. DOI: 10.1155/2015/526483.
- Watson R.R., Preedy V.R., Zibadi S. (eds.). Polyphenols in Human Health and Disease. Waltham: Elsevier Inc., 2014: 1488.
- Чернышева Г.А., Смольякова В.И., Черкашина И.В., Плотников М.Б., Толстикова Т.Г., Крысин А.П. Оценка основных фармакокинетических параметров *n*-тирозола у крыс при внутривенном введении // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2005; 68 (6): 43–44.
- Chernysheva G.A., Smol'yakova V.I., Osipenko A.N., Plotnikov M.B. Evaluation of survival and neurological deficit in rats in the new model of global transient cerebral ischemia // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2014; 158 (2): 197–199. DOI: 10.1007/s10517-014-2721-8.
- Плотников М.Б., Алиев О.И., Плотникова Т.М. Методические подходы к изучению веществ, влияющих на реологию крови // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2011; 74 (12): 36–40.
- Баркаган З.С., Момот А.П.. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М: Ньюдиамед, 2001: 296.
- Косухин А.Б., Ахметова Б.С. Экстракция липидов смесью гептан-изопропанол для определения диеновых конъюгатов // *Лабораторное дело*. 1987; 5: 335–337.
- Plazor Z., Kussela L. In vivo lipoperoxidation in der lobe nach partieller hepatoektomie // *Acta biol. et med. germ.* 1968; 21: 121–124.
- Tappel A. L. Protection against free radical lipids peroxidation reaction // *Pharm. Intervent. Aging Process*. 1978; 97: 111–113.
- Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). М.: Медицина; 1989: 368.

16. Tikhomirova I.A., Oslyakova A.O., Mikhailova S.G. Microcirculation and blood rheology in patients with cerebrovascular disorders // *Clin Hemorheol Microcirc.* 2011; 49 (1–4): 295–305. DOI: 10.3233/CH-2011-1480.
17. Wood J.H., Kee D.B.Jr. Hemorheology of the cerebral circulation in stroke // *Stroke.* 1985; 16 (5): 765–772. DOI: 10.1161/01.STR.16.5.765.
18. Késmárky G., Kenyeres P., Róbai M., Tyth K. Plasma viscosity: A forgotten variable // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2008; 39 (1–4): 243–246. DOI: 10.3233/CH-2008-1088.
19. Caplan L.R., Bogousslavsky J. (eds.) Uncommon cases of stroke. New York: Cambridge University Press; 2008: 584.
20. Mohandas N., Chasis J.A. Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids // *Semin. Hematol.* 1993; 30 (3): 171–192.
21. Zhang J. Effect of suspending viscosity on red blood cell dynamics and blood flows in microvessels // *Microcirculation.* 2011; 18 (7): 562–573. DOI: 10.1111/j.1549-8719.2011.00116.x.
22. Cicco G., Pirrelli A. Red blood cell (RBC) deformability, RBC aggregability and tissue oxygenation in hypertension // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 1999; 21 (3–4): 169–177.
23. Imre S.G., Fekete I., Farkas T. Increased proportion of docosahexanoic acid and high lipid peroxidation capacity in erythrocytes of stroke patients // *Stroke.* 1994; 25 (12): 2416–2420.
24. Owen R.W., Giacosa A., Hull W.E., Haubner R., Spiegelhalter B., Bartsch H. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil // *Eur. J. Cancer.* 2000; 36 (10): 1235–1247. DOI: 10.1016/S0959-8049(00)00103-9

Поступила в редакцию 26.11.2016  
Утверждена к печати 19.12.2016

Осипенко Антон Николаевич, аспирант кафедры фармакологии, СибГМУ, г. Томск.  
Плотникова Татьяна Макаровна, д-р биол. наук, профессор кафедры фармакологии, СибГМУ, г. Томск.  
Чернышева Галина Анатольевна, д-р мед. наук, вед. научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, ТНИМЦ РАН, г. Томск.  
Смольякова Вера Ивановна, канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, ТНИМЦ РАН, г. Томск.

(✉) Осипенко Антон Николаевич, e-mail: osipenko-an@mail.ru

УДК 616.831-005.4:615.214

DOI 10.20538/1682-0363-2017-1-65–72

For citation: Osipenko A.N., Plotnikova T.M., Chernysheva G.A., Smolyakova V.I. The mechanisms of neuroprotective action of *p*-tyrosol after the global cerebral ischemia in rats. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2017; 16 (1): 65–72

## The mechanisms of neuroprotective action of *p*-tyrosol after the global cerebral ischemia in rats

Osipenko A.N.<sup>1</sup>, Plotnikova T.M.<sup>1</sup>, Chernysheva G.A.<sup>2</sup>, Smolyakova V.I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> Goldberg Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center,  
Russian Academy of Sciences  
3, Lenina Str., Tomsk, 634028, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** The aim of our study is to explore the mechanisms of neuroprotective effects of *p*-tyrosol in acute global cerebral ischemia-reperfusion in rats.

**Material and methods.** The study was performed on 30 male rats stock Wistar (250–300 g). Animals were divided into 3 groups of 10 rats. In the control and experimental groups we performed the new 3VO model of cerebral ischemia-reperfusion, and the sham-operated animals underwent the same surgical procedures, but

without the ligature imposition. Animals in the experimental group received *p*-tyrosol for 5 days intravenously at a daily dose of 20 mg/kg in a 2% solution. The sham-operated rats and control animals received a isotonic solution of NaCl at the same scheme. We measured rheological blood parameters and the content of products of lipid peroxidation in the brain tissue on the 5th day after cerebral ischemia-reperfusion.

**Results.** Acute ischemia-reperfusion of the brain in rats from the control group caused the significant hemorheological abnormalities, including the increased whole blood viscosity and plasma viscosity, decreased the erythrocyte aggregation half-time and decreased red blood cell deformability index. The increase blood viscosity caused the decrease of the oxygen delivery to the tissues. The content of diene and triene conjugates, fluorescent products and the lipid oxidation index increased in the brain tissue of the control group. These abnormalities induced the death of 50% animals from the control group. Given intravenously to animals of the experimental group, *p*-tyrosol reduced the whole blood viscosity by 19–31%, the plasma viscosity by 6% and increased the erythrocyte deformability by 31–40%, that led to the increase of oxygen availability for tissues by 21–31% in comparison with the control group. The contents of diene and *p*-triene conjugates and fluorescent products in the brain tissue under course administration of *p*-tyrosol decreased respectively by 37%, 49 and 45%, that reflected in the decreasing of lipids oxidation index by 38% in comparison with the control group. The number of survived animals in the experimental group was 1,4 times bigger than in the control group.

**Conclusion.** Course administration of *p*-tyrosol to rats with acute cerebral ischemia-reperfusion reduces the blood viscosity and the intensity of oxidative stress in the brain tissue. The results of these effects are the reduction of negative outcomes of ischemia-reperfusion of the brain and the increasing of animal surviving, that confirms the neuroprotective action of *p*-tyrosol in these conditions.

**Key words:** *p*-tyrosol, global cerebral ischemia, blood viscosity, reperfusion syndrome, oxidative stress, neuroprotective effect, antioxidant effect.

## REFERENCES

1. Béjot Y., Daubail B., Giroud M. Epidemiology of stroke and transient ischemic attacks: Current knowledge and perspectives // *Rev. Neurol. (Paris)*. 2016;172 (1): 59–68. DOI: 10.1016/j.neurol.2015.07.013.
2. Harukuni I., Bhardwaj A. Mechanisms of brain injury after global cerebral ischemia // *Neurol. Clin.* 2006; 24 (1): 1–21. DOI: 10.1016/j.ncl.2005.10.004.
3. Deiana M., Corona G., Incani A., Loru D., Rosa A., Atzeri A., Paola Melis M., Assunta Dessm M. Protective effect of simple phenols from extravirgin olive oil against lipid peroxidation in intestinal Caco-2 cells // *Food Chem. Toxicol.* 2010; 48 (10): 3008–3016. DOI: 10.1016/j.fct.2010.07.041.
4. Zhao H., Sapolsky R.M., Steinberg G.K. Interrupting reperfusion as a stroke therapy: Ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2006; 26 (9): 1114–1121. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600348.
5. Sanderson T.H., Reynolds C.A., Kumar R., Przyklenk K., Höttemann M. Molecular mechanisms of ischemia-reperfusion injury in brain: pivotal role of the mitochondrial membrane potential in reactive oxygen species generation // *Mol. Neurobiol.* 2013; 47 (1): 9–23. DOI: 10.1007/s12035-012-8344-z.
6. Guan L., Zhang Y.L., Li Z.Y., Zhu M.X., Yao W.J., Zhao J.Y. Salvianolic acids attenuate rat hippocampal injury after acute CO poisoning by improving blood flow properties // *Biomed. Res. Int.* 2015; 2015: 526483. DOI: 10.1155/2015/526483.
7. Watson R.R., Preedy V.R., Zibadi S. (eds.). Polyphenols in Human Health and Disease. Waltham: Elsevier Inc., 2014: 1488.
8. Chernyshova G.A., Plotnikov M.B., Smol'iakova V.I., Krasnov E.A. Otsenka osnovnykh farmakokineticheskikh parametrov *n*-tirozola u krys pri nutrivennom vvedenii [The main pharmacokinetic parameters of *p*-tyrosol upon intravenous injection in rats] // *Eksp. Klin. Farmakol. 2005; 68 (6): 43–44 (in Russian)*.
9. Chernysheva G.A., Smol'yakova V.I., Osipenko A.N., Plotnikov M.B. Evaluation of survival and neurological deficit in rats in the new model of global transient cerebral ischemia // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2014; 158 (2): 197–199. DOI: 10.1007/s10517-014-2721-8.
10. Plotnikov M.B., Alie O.I., Plotnikova T.M. Metodicheskie podkhody k izucheniyu veshchestv, vliyayushchikh na reologiyu krovi [Determination of blood rheological properties: methodical recommendations] // *Eksp. Klin. Farmakol. 2011; 74 (12): 36–40 (in Russian)*.
11. Barkagan Z.S., Momot A.P. Diagnostika i kontroliruemaya terapiya narusheniy gemostaza [Diagnostics and controlled therapy of hemostasis disorders] // M.: N'judiamed Publ., 2001: 296 (in Russian).
12. Kosuhin A.B., Ahmetova B.S. Ekstraktsiya lipidov smes'yu heptan-izopropanol dlya opredeleniya dienovykh

- kon'yugatov [Lipid extraction by heptane-isopropanol mixture for determination of diene conjugates] // *Laboratornoe delo – Lab. Delo*. 1987; 5: 335–337 (in Russian).
13. Plazor Z., Kussela L. In vivo lipoperoxidation in der lobar nach partieller hepatotektonic // *Acta Biol. et Med. germ.* 1968; 21: 121–124.
  14. Tappel A. L. Protection against free radical lipids peroxidation reaction // *Pharm. Intervent. Aging Process.* 1978; 97: 111–113.
  15. Bilenko M.V. Ishemicheskie i reperfuzionnye povrezhdeniya organov: (molekulyarnye mekhanizmy, puti preduprezhdeniya i lecheniya) [Ischemic and reperfusion organ injuries (molecular mechanisms, prevention and therapy ways)] // M.: Meditsyna Publ., 1989: 368 (in Russian).
  16. Tikhomirova I.A., Oslyakova A.O., Mikhailova S.G. Microcirculation and blood rheology in patients with cerebrovascular disorders // *Clin Hemorheol Microcirc.* 2011; 49 (1–4): 295–305. DOI: 10.3233/CH-2011-1480.
  17. Wood J.H., Kee D.B.Jr. Hemorheology of the cerebral circulation in stroke // *Stroke*. 1985; 16 (5): 765–772. DOI: 10.1161/01.STR.16.5.765.
  18. Késmörky G., Kenyeres P., Róbai M., Tyth K. Plasma viscosity: A forgotten variable // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2008; 39 (1–4): 243–246. DOI: 10.3233/CH-2008-1088.
  19. Caplan L.R., Bogousslavsky J. (eds.) Uncommon cases of stroke. New York: Cambridge University Press; 2008: 584.
  20. Mohandas N., Chasis J.A. Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids // *Semin. Hematol.* 1993; 30 (3): 171–192.
  21. Zhang J. Effect of suspending viscosity on red blood cell dynamics and blood flows in microvessels // *Microcirculation*. 2011; 18 (7): 562–573. DOI: 10.1111/j.1549-8719.2011.00116.x.
  22. Cicco G., Pirrelli A. Red blood cell (RBC) deformability, RBC aggregability and tissue oxygenation in hypertension // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 1999; 21 (3–4): 169–177.
  23. Imre S.G., Fekete L., Farkas T. Increased proportion of docosahexanoic acid and high lipid peroxidation capacity in erythrocytes of stroke patients // *Stroke*. 1994; 25 (12): 2416–2420.
  24. Owen R.W., Giacosa A., Hull W.E., Haubner R., Spiegelhalter B., Bartsch H. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil // *Eur. J. Cancer*. 2000; 36 (10): 1235–1247. DOI: 10.1016/S0959-8049(00)00103-9

Received November 26.2016

Accepted December 19.2016

**Osipenko Anton N.**, Postgraduate Student of the Department of Pharmacology, Siberian State Medical University, Russian Federation.

**Plotnikova Tatiana M.**, DM, Professor of the Department of Pharmacology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Chernysheva Galina A.**, DM, Sear Researcher of the Laboratory of Pharmacology of Blood Circulation, Goldberg Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation.

**Smolyakova Vera I.**, PhD, Researcher of the Laboratory of Pharmacology of Blood Circulation, Goldberg Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Osipenko Anton N.**, e-mail: osipenko-an@mail.ru