

ВЛИЯНИЕ ТЕТРАПЕПТИДА КОРТАГЕНА НА РЕГЕНЕРАЦИЮ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА

Л.Н.Турчанинова, Л.И.Колосова, В.В.Малинин*, А.Б.Моисеева,
А.Д.Ноздрачев, В.Х.Хавинсон*

*Лаборатория общей физиологии рецепции (зав. — акад. РАН А.Д.Ноздрачев) Института физиологии им. И.П.Павлова РАН; *Институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН, Санкт-Петербург*

Внутримышечное введение кортагена крысам в дозе 10 мкг/кг в течение 10 дней после перерезки и сшивания седалищного нерва приводит к увеличению на 27% скорости роста регенерирующих нервных волокон. Применение кортагена также способствует увеличению на 40% скорости проведения возбуждения по регенерирующими первым волокнам.

Ключевые слова: пептиды, кортаген, регенерация, нерв

Регенерация периферических нервов после травматических повреждений, сопровождающихся разрывом нервного ствола, происходит медленно и часто не обеспечивает полного восстановления функции поврежденных нервных волокон. В связи с этим актуальной является разработка новых средств и методов стимуляции процессов регенерации в нервной ткани.

После открытия фактора роста нервов [9] были выявлены различные белковые и пептидные вещества, ускоряющие рост нейритов *in vitro* [10], а также стимулирующие регенерацию периферических нервов и реиннервацию тканей-мишеней *in vivo* [3,7,8,11-13].

С использованием электрофизиологических, морфологических, биохимических и функциональных тестов выявлено положительное влияние на различные параметры регенерации нерва производных полипептидного фактора гипофиза — предшественника проопиомеланокортина, меланоцитстимулирующего гормона- α , АКТГ-подобных пептидов и опиоидных пептидов (лей-энкефалина и его синтетического аналога даларгина) [1]. При этом степень влияния на тот или иной показатель зависела прежде всего от структуры и физико-химических свойств пептидного фрагмента, дозы и способа применения.

Адрес для корреспонденции: 197110 Санкт-Петербург, просп. Динамо, д. 3, Институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН. vvm@medport.ru. Хавинсон В.Х.

В органотипической культуре фрагментов коры головного мозга куриных эмбрионов установлено нейритстимулирующее влияние полипептидного препарата кортексина, выделенного из коры головного мозга животных [5]. Применение кортексина стимулирует reparативные процессы в головном мозге у неврологических больных и приводит к ускорению восстановления функций головного мозга после стрессорных воздействий, что свидетельствует о нейротрофической активности препарата.

Целью данной работы было изучение влияния нового синтетического тетрапептида кортагена на восстановление функции поврежденного седалищного нерва (СН) крысы.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Операции проводили на 25 крысах-самцах Вистар массой 200-250 г в стерильных условиях под кетаминовым наркозом (45-50 мг/кг кетамина и 10-20 мг/кг рометара внутримышечно). Ствол СН перерезали выше области разделения его на три основные ветви — большеберцовую, малоберцовую и икроножную — в месте отхождения кожного нерва от общего ствола. После этого под операционным микроскопом "МБС-2" концы перерезанного нерва соединяли тремя эпипериневральными микрохирургическими швами атравматической иглой с супрамидной нитью 10/0.

Кортаген вводили животным внутримышечно в дозе 10 мкг/кг ежедневно в течение 10 дней, начиная со дня операции. Животные контрольной группы по аналогичной схеме получали инъекции физиологического раствора.

Кортаген (Ala-Glu-Asp-Pro) был получен методом целенаправленного конструирования на основании аминокислотного анализа кортексина.

Действие кортагена на восстановление проводимости поврежденного СН оценивали через 4 нед после операции с помощью регистрации суммарного потенциала действия (ПД). Тестирование проводили *in vitro* по методу Леграна на специальной многоэлектродной эbonитовой площадке [2]. Использование многоэлектродной площадки позволяет в стандартных условиях рассчитывать параметры суммарного ПД и определять расстояние от места шва, на котором происходит восстановление проводимости нервных импульсов по регенерирующими нервным волокнам, регистрируя суммарные ПД на расстоянии до 30 мм от раздражающих электродов. Иссеченный нерв помещали на площадку таким образом, чтобы место шва располагалось строго на уровне индифферентного электрода. После этого площадку заполняли вазелиновым маслом, подогретым до температуры тела. Участок нерва выше места повреждения раздражали прямоугольными импульсами длительностью 0.2 мс, генерация которых осуществлялась посредством стимулятора ЭСУ-2. Интенсивность стимулов в 3 раза превышала пороговую. Отведение ПД производилось дистальнее места шва. После предварительного усиления сигнал подавался на вход катодного осциллографа "С1-69" для наблюдения и регистрации.

Измеряли расстояние, на котором проведение нервных импульсов восстановилось, а также латентный период ПД с последующим расчетом скорости проведения возбуждения по волокнам регенерирующего СН. Статистическую обработку материалов проводили с использованием параметрического *t* критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При электрическом раздражении интактного СН отчетливые ответы прослеживались на всем исследуемом отрезке нерва.

Электрофизиологическое тестирование регенерирующих нервных волокон проводились через 4 нед после повреждения нерва, поскольку именно 3-4-недельный срок является оптимальным для выявления эффектов воздействия различных факторов на процесс восстановления

проводимости волокон регенерирующего нерва [3]. К этому времени можно точно определить то расстояние от места шва, на котором восстанавливается проведение ПД по нерву. Именно это расстояние соответствует протяженности прорастания регенерирующих нервных волокон. Необходимо отметить, что данная величина не является абсолютной, т.к. отдельные тонкие регенерирующие нервные волокна могут прорастать на большее расстояние, однако их активность может шунтироваться в стволе нерва и является недостаточной для формирования сложного ПД.

У животных, не получавших инъекций кортагена, имели место значительные колебания скорости роста нервных волокон. Это объясняется тем, что интенсивность регенерационных процессов зависит от многих факторов. Некоторые из них, в том числе пол, возраст животного, вид и уровень повреждения, задаются условиями эксперимента. Другие же факторы, такие как гормональный и иммунный статус организма, приводят к существенным индивидуальным вариациям в скорости репаративных процессов. Однако в группе животных, получавших кортаген, индивидуальные колебания роста нервных волокон оказались незначительными, и величина их прорастания находилась в области верхней границы, установленной у животных контрольной группы (таблица). Это позволяет предположить, что кортаген положительно влиял на регенерационные процессы у животных с невысокой скоростью прорастания. При сравнении средних величин роста регенерирующих нервных волокон выявлено статистически достоверное (на 27%, $p<0.01$) увеличение расстояния, на котором регистрировалось восстановление проводимости СН у животных опытной группы (таблица).

Для оценки латентных периодов и последующего расчета скорости проведения были выбраны потенциалы, регистрируемые на расстоя-

Влияние кортагена на рост регенерирующих волокон поврежденного СН крысы

Показатель	Контроль	Кортаген
Восстановление проводимости нерва, мм		
$M \pm m$	18.3±1.5	23.3±0.4*
пределы колебаний	14-24	22-24
Скорость проведения возбуждения, м/с	13.9±1.6	19.4±1.1**

Примечание. * $p<0.01$, ** $p<0.02$ по сравнению с контролем.

нии 12 мм от индифферентного электрода (что соответствует уровню шва для регенерирующего нерва). Именно на этом расстоянии у всех животных регистрировались стабильные суммарные ПД. Анализ скорости проведения возбуждения, зарегистрированной у интактных, контрольных и опытных животных, показал, что регенерирующие волокна поврежденного СН у животных контрольной и опытной групп имеют значительно меньшую скорость проведения (на 66 и 53% соответственно), чем волокна интактного нерва. Медленное проведение ПД на начальном этапе регенерации связано с тем, что регенерирующие волокна еще слабо миелинизированы и имеют меньший диаметр. Однако скорость проведения сигнала у животных опытной группы была достоверно ($p<0.02$) выше, чем в контроле (таблица). Эти данные свидетельствуют о стимулирующем влиянии кортагена на регенерацию поврежденного СН.

Установлено, что кортаген не только влияет на скорость роста нервных волокон, но и приводит к их более раннему функциональному созреванию, что нашло отражение в увеличении скорости проведения сигнала по регенерирующими нервным структурам на 40%. Как известно, СН состоит, по крайней мере, из трех групп волокон — А, В и С, отличающихся друг от друга не только по функциональному назначению, но и по скорости проведения возбуждения [4]. Толстые миелинизированные А-волокна регенерируют раньше, чем тонкие немиелинизированные С-волокна. Среди А-волокон двигательные волокна регенерируют быстрее, чем чувствительные [6]. Можно предположить, что на исследуемом этапе регенерации основной вклад в суммар-

ный ПД вносят двигательные и чувствительные А-волокна.

Таким образом, результаты настоящего исследования свидетельствуют о наличии у нового тетрапептида кортагена выраженных нейротрофических свойств. Внутримышечное применение кортагена позволяет достигнуть существенного восстановления не только анатомической структуры, но и функциональной состоятельности волокон поврежденного периферического нерва.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акоев Г.Н., Ильинский О.Б., Колосова Л.И. и др. // Физиол. журн. СССР. 1989. Т. 75, № 1. С. 33-37.
2. Колосова Л.И., Акоев Г.Н., Авелев В.Д. и др. // Нейрофизиология. 1993. Т. 1, № 1. С. 27-31.
3. Колосова Л.И., Мусеева А.Б., Рябчикова О.В., Акоев Г.Н. // Рос. физиол. журн. 1997. Т. 83, № 11-12. С. 74-78.
4. Ноздрачев А.Д., Чумасов Е.И. Периферическая нервная система. СПб., 1999.
5. Хавинсон В.Х., Морозов В.Г., Чалисова Н.И., Окулов В.Б. // Цитология. 1997. Т. 39, № 7. С. 571-575.
6. Brown M.C., Perry V.H., Hunt S.P., Lapper S.R. // Eur. J. Neurosci. 1994. Vol. 6, N 3. P. 420-428.
7. Davison S.P., McCaffrey T.V., Porter M.N., Manders E. // Laryngoscope. 1999. Vol. 109, N 4. P. 631-635.
8. Laird J.M., Mason G.S., Thomas K.A. et al. // Neuroscience. 1995. Vol. 65, N 1. P. 209-216.
9. Levi-Montalcini R., Angeletti P.U. // Physiol. Rev. 1968. Vol. 48, N 3. P. 534-569.
10. Lindsay R.M., Harmar A.J. // Nature. 1989. Vol. 337, N 6205. P. 362-364.
11. Strand F.L., Rose K.J., King J.A. et al. // Prog. Neurobiol. 1989. Vol. 33, N 1. P. 45-85.
12. Trigg D.J., O'Grady K.M., Bhattacharyya T. et al. // Am. J. Otolaryngol. 1998. Vol. 19, N 1. P. 29-32.
13. Van der Hoop R.G., Brakkee J.H., Kapelle A. et al. // J. Neurosci. Methods. 1988. Vol. 26, N 2. P. 111-116.

Получено 23.10.00