

УДК 535.379:[615.235:616.831-001-08]:616-092.9

В. Д. Лук'янчук, д-р мед. наук, проф.,  
В. С. Федорова

## ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ БІОХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ У ТВАРИН ПРИ ЗАКРИТІЙ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ ТА ЛІКУВАННІ АЦЕТИЛЦИСТЕЇНОМ

Державний заклад «Луганський державний медичний університет»,  
Луганськ, Україна

УДК 535.379:[615.235:616.831-001-08]:616-092.9

В. Д. Лук'янчук, В. С. Федорова

## ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ БИОХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ У ЖИВОТНЫХ ПРИ ЗАКРЫТОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ И ЛЕЧЕНИИ АЦЕТИЛЦИСТЕИНОМ

Государственное учреждение «Луганский государственный медицинский университет»,  
Луганск, Украина

Статья посвящена изучению влияния ацетилцистеина на интенсивность течения процессов свободнорадикального окисления в условиях закрытой черепно-мозговой травмы. Установлено, что применение ацетилцистеина с лечебной целью на фоне механической травмы головного мозга весьма эффективно предупреждает разветвления цепных свободнорадикальных реакций в организме подопытных животных. Последнее подтверждается восстановлением кинетики всех параметров сверхслабого свечения в исследуемом биосубстрате. Вышеизложенное обосновывает дальнейшие исследования ацетилцистеина для фармакокоррекции данной экстремальной патологии.

**Ключевые слова:** закрытая черепно-мозговая травма, перекисное окисление липидов, свободнорадикальные процессы, ацетилцистеин, биохемилюминесценция.

UDC 535.379:[615.235:616.831-001-08]:616-092.9

V. D. Lukyanchuk, V. S. Fedorova

## DYNAMICS OF BIOCHEMILUMINESCENCE'S PARAMETERS IN ANIMALS WITH CLOSED CRANIOCEREBRAL INJURY AND TREATMENT WITH ACETYLCYSTEINE

A state institution "The Lugansk State Medical University", Lugansk, Ukraine

This article is devoted to studying of acetylcysteine's influence on the intensity of free radical oxidation processes in closed brain injury. It was found that the administration of acetylcysteine with therapeutic purposes on background of mechanical brain injury quite effectively prevents free-radical chain branching reactions in the organisms of experimental animals. It is confirmed in recovery of the kinetics of all parameters of superweak luminescence in investigated biosubstrate. The data mentioned above justify further study of acetylcysteine as a remedy for pharmacocorrection of extreme pathology.

**Key words:** closed craniocerebral injury, lipid peroxidation, free-radical processes, biochemiluminescence, acetylcysteine.

### Вступ

Сьогодні проблема лікування закритої черепно-мозкової травми (ЗЧМТ) не втрачає своєї актуальності, що пов'язано як із щорічним зростанням поширеності даної патології, так і з тяжкими наслідками перенесеної травми головного мозку, яка призводить до інвалідизації та високої летальності [1].

У патогенезі ЗЧМТ провідну роль відіграє надмірна та безконтрольна генерація вільних радикалів, що призводить до гіперактивації процесів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і розвитку оксидативного

стресу [2]. Особлива небезпека формування оксидативного стресу при ЗЧМТ визначається інтенсивністю перекисних процесів у головному мозку. При цьому активні форми кисню (АФК) виступають у ролі ендогенних індукторів оксидативного стресу, зумовленого, передусім, ПОЛ та окисною модифікацією білків, що, у подальшому, реалізується посиленням окисного метаболізму мозку. Надлишок продукції АФК віддзеркалює не тільки ступінь оксидативного стресу та тяжкість перебігу ЗЧМТ, але і є причиною деструкції мембран, порушення проникності бар'єрів, загибелі клітин мозку та розширення зони некрозу [3].

З огляду на це, є доцільним вивчити застосування засобів для фармакологічної корекції травматичних ушкоджень головного мозку, що характеризуються антиоксидантними і, головним чином, антирадикальними властивостями. Таким препаратом, на нашу думку, може слугувати тіолвмісний фармакотерапевтичний засіб — ацетилцистеїн.

Одним із найбільш специфічних і високочутливих методів оцінки впливу лікарських засобів на стан кінетики вільнорадикальних реакцій та антиоксидантної системи захисту організму є біохемілюмінесценція (БХЛ).

З огляду на вищевикладене, вважали за доцільне дослідити кінетику вільнорадикальних процесів у сироватці крові щурів із ЗЧМТ на фоні застосування ацетилцистеїну, що і стало метою даного фрагменту комплексної роботи.

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження виконані на 80 білих статевозрілих безпородних щурах обох статей масою 180–220 г, відповідно до методичних рекомендацій ДП «Державний експертний Центр» (ДП «ДЕЦ») МОЗ України [4], у лабораторії кафедри фармакології ДЗ «Луганський державний медичний університет», яка сертифікована ДП «ДЕЦ» на предмет проведення доклінічних досліджень лікарських засобів (посвідчення № 03 від 25 грудня 2008 р.).

В експерименті моделювали ЗЧМТ, що розвивається у тварин на фоні нанесення їм дозованого за силою й орієнтованого за локалізацією удару вільнопадаючим вантажем масою 45 г на тім'яну ділянку черепа щурів, зафіксованих в удосконаленій камері Когана за допомогою спеціального пристрою, розробленого на нашій кафедрі [5]. Усі тварини були поділені на 4 групи: інтактну з 8 щурів, контрольну (ЗЧМТ), дослідну (ЗЧМТ + ацетилцистеїн) і референтну (ЗЧМТ + ноотропіл) — по 24 тварини у кожній групі. Тваринам дослідної групи фармакотерапію екстремального стану, що моделюється, проводили дворазовим внутрішньоочеревинним введенням ацетилцистеїну (виробник — «Луганський хімфармзавод», Україна), згідно з раніше встановленим нами дозовим режимом [6], а саме: дозою 137,1 мг/кг у вигляді 2 % водного розчину через 30 хв після початку моделювання ЗЧМТ і дозою 123,4 мг/кг через 6,5 год після неї. Препаратом порівняння обрано ноотропіл [7] (виробник — «UCB S. A. Pharma Sector», Бельгія), який щурам вводили в ізомоларній дозі по відношенню до ацетилцистеїну і в ті ж проміжки часу. Тварини контрольної групи в такому ж режимі отримували еквівалентний об'єм 0,9 % розчину натрію хлориду.

Кількість вільних радикалів у сироватці крові визначали методом БХЛ відповідно до мето-

дичних рекомендацій [8]. Зміни характеристик БХЛ реєстрували за допомогою хемілюмінометра «Emillite-1105», спектральний діапазон якого становить 350–390 нм, а діапазон вимірів —  $10^5$ – $10^{12}$  фотонів/с.

Визначення кінетики надслабкого світіння здійснювали за рівнем таких показників: амплітуда швидкого спалаху ( $I_1$ ), амплітуда повільного спалаху ( $I_2$ ), час індукції повільного спалаху ( $\tau$ ), амплітуда кінцевого значення БХЛ ( $I_k$ ), а також загальна світлосума реакції (S). Розрахунок цих параметрів проводили за допомогою комп'ютерної програми, яку розробив доцент кафедри фармакології ДЗ «Луганський державний медичний університет» Д. С. Кравець. Дослідження виконували в динаміці: через 1, 3 та 6 діб від початку моделювання ЗЧМТ.

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали з використанням t-критерію Стьюдента за програмою «Statgraphics».

### Результати дослідження та їх обговорення

Отримані результати, що представлені в табл. 1, свідчать про підвищення інтенсивності надслабкого світіння сироватки крові в динаміці за умов ЗЧМТ. Так, амплітуда швидкого спалаху надслабкого світіння в контрольній серії вірогідно ( $P < 0,001$ ) підвищується у ранні терміни (1 і 3 доби) експерименту на 48 і 57 % відповідно порівняно з групою щурів без патології. Надалі простежується тенденція до збільшення даного показника в контролі, проте рівень  $I_1$  залишається вищим на 40 % за такий, що ідентифікується в інтактній групі. Ці дані вельми переконливо свідчать про суттєве виснаження пулу ендогенних антиоксидантів і зміщення антиоксидантно-прооксидантної рівноваги в організмі щурів у бік перекисних процесів. При застосуванні ж ацетилцистеїну значення  $I_1$  у сироватці крові наближається до величин, зареєстрованих у інтактних тварин, і вже на 6-й добі експерименту не відрізняються від них ( $P > 0,05$ ). Це вказує на здатність досліджуваного препарату вельми ефективно запобігати нагромадженню у сироватці крові перекисних продуктів, у першу чергу, гідроперекисів ліпідів, і може уповільнювати розвиток оксидативного стресу на моделі ЗЧМТ.

Підтвердження вищевказаного було знайдено при подальшому аналізі отриманих результатів. Доведено, що амплітуда повільного спалаху світіння, яка відображає максимальну інтенсивність ПОЛ, у сироватці крові тварин із закритою травмою головного мозку перевищує аналогічний показник у інтактній групі в 1,8 і 2,2 разу через 1 і 3 доби дослідження відповідно (див. табл. 1). Хоча на 6-й добі відбувається відновлення показника, що аналізується, у

Таблиця 1

Результати вивчення впливу ацетилцистеїну на показники біохемілюмінесценції сироватки крові щурів із ЗЧМТ, n=8

Група тварин	Термін дослідження, доба		
	1	3	6
Амплітуда швидкого спалаху надслабкого світіння БХЛ ( $I_1$ ), імп/с			
Інтактна	366,33±9,79		
Контрольна	703,17± ±22,14 $P_1 < 0,001$	849,50± ±24,71 $P_1 < 0,001$	613,00± ±20,63 $P_1 < 0,01$
Дослідна	442,67± ±16,93 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	403,67± ±24,30 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	349,67± ±16,33 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,05$
Референтна	395,83± ±21,04 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$	423,00± ±21,44 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,001$	394,50± ±20,16 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$
Амплітуда повільного спалаху надслабкого світіння БХЛ ( $I_2$ ), імп/с			
Інтактна	335,00±9,75		
Контрольна	616,00± ±26,03 $P_1 < 0,001$	737,83± ±40,69 $P_1 < 0,001$	562,33± ±20,91 $P_1 < 0,001$
Дослідна	419,16± ±18,73 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	350,67± ±26,58 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	291,00± ±17,86 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$
Референтна	363,83± ±20,95 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$	404,00± ±20,52 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,001$	352,50± ±18,03 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$
Кінцеве значення інтенсивності світіння ( $I_k$ ), імп/с			
Інтактна	70,17±2,33		
Контрольна	78,83±4,96 $P_1 > 0,05$	95,00±8,62 $P_1 < 0,05$	89,83±6,91 $P_1 < 0,05$
Дослідна	60,00±1,88 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,01$ $P_3 < 0,05$	65,50±5,08 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,05$ $P_3 > 0,05$	63,17±3,81 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,05$ $P_3 < 0,05$
Референтна	73,17±4,41 $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$	63,50±2,62 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,05$	79,17±4,55 $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$

Примітка. Вірогідність різниці порівняно:  $P_1$  — з інтактною групою;  $P_2$  — з контрольною групою;  $P_3$  — з референтною групою.

групі контролю, однак  $I_2$  у сироватці крові в 1,6 разу більше, ніж у «здорових» тварин. Тим же часом, у групі, тваринам якої вводили ацетилцистеїн, даний показник у сироватці крові залишається відносно стабільним і вірогідно

( $P < 0,001$ ) нижчим за такий, що реєструється в контрольній групі протягом усього експерименту. Цей експериментально встановлений факт свідчить, що ацетилцистеїн сприяє відновленню окисного гомеостазу на фоні ЗЧМТ шляхом інгібування процесів радикалоутворення, які відбуваються за участі металів змінної валентності.

Вважаємо за необхідне наголосити, що показники  $I_1$  і  $I_2$  дослідної та референтної груп у сироватці крові в усі терміни дослідження не мають вірогідної різниці ( $P > 0,05$ ).

Наступним показником, що аналізували на кінетичній кривій БХЛ, є кінцеве значення інтенсивності світіння, яке відображає зміни динамічної рівноваги між процесами генерації та знешкодження «люмінесцентних» продуктів ПОЛ. Установлено, що величина цього показника у сироватці крові щурів із ЗЧМТ має тенденцію до збільшення, особливо через 3 доби після моделювання закритої травми мозку (на 26 % порівняно з інтактною групою). Отже, отримані результати свідчать про порушення динамічної рівноваги між процесами синтезу і розпаду продуктів вільнорадикальних реакцій, що супроводжуються надслабким світінням.

Інша картина динаміки показника  $I_k$  спостерігається в групі тварин із ЗЧМТ, яким вводили ацетилцистеїн. Так, згідно з наведеними в табл. 1 даними, кінцеве значення інтенсивності БХЛ сироватки крові дослідної групи знижується у середньому в 1,4 разу порівняно з контролем (ЗЧМТ без лікування) і не має вірогідних відмінностей від показників інтактною групи. Даний факт, імовірно за все, є наслідком того, що ацетилцистеїн, як тіолвмісний препарат, характеризується антирадикальною активністю в умовах неконтрольованого вільнорадикального окиснення у сироватці крові при ЗЧМТ, що, у кінцевому підсумку, реалізується усуненням дисбалансу в процесах синтезу і розпаду перекисних продуктів.

При аналізі часу індукції повільного спалаху, який характеризує стан антиоксидантного профілю тварин за умов гострої форми травматичної хвороби головного мозку, що моделюється, у сироватці крові відбувається зниження величини  $\tau$  через 1 і 3 доби після нанесення травми головного мозку на 38 і 30 % відповідно (рис. 1). У групі дослідних щурів під впливом ацетилцистеїну значення цього показника зберігаються на рівні «здорових» тварин протягом усього експерименту, а також величина  $\tau$  дослідної серії не має вірогідної ( $P > 0,05$ ) різниці з препаратом порівняння (ноотропіл). Отримані дані дозволяють розцінювати збільшення тривалості латентного періоду повільного спалаху надслабкого світіння у сироватці крові дослідної групи як виражену здатність ацетилцистеїну підтримувати достатньо висо-



Рис. 1. Вплив ацетилцистеїну на динаміку часу індукції повільного спалаху у сироватці крові щурів при ЗЧМТ: \* —  $P < 0,05$  вірогідно порівняно з інтактною групою; \*\* —  $P < 0,05$  вірогідно порівняно з контрольною групою; \*\*\* —  $P < 0,05$  вірогідно порівняно з референтною групою

кий рівень ендогенних антиоксидантів, що веде до підвищення стійкості організму тварин до окиснювального стресу, який розвивається на фоні ЗЧМТ.

Одним із найінформативніших показників БХЛ-аналізу є загальна сума реакцій, що характеризує здатність ліпідів піддаватись окисненню. На рис. 2 видно, що в контрольній серії значення S вірогідно ( $P < 0,001$ ) перевищують відповідні показники в інтактній групі впродовж усього дослідження. При цьому максимальні зміни реєструються через 3 доби після перене-



Рис. 2. Вплив ацетилцистеїну на загальну світлосуму сироватки крові щурів за умов ЗЧМТ ( $n=8$ ): \* —  $P < 0,05$  вірогідно порівняно з інтактною групою; \*\* —  $P < 0,05$  вірогідно порівняно з контрольною групою; \*\*\* —  $P < 0,05$  вірогідно порівняно з референтною групою

сеної ЗЧМТ, де S на 40 % вища, ніж у «здорових» щурів.

Аналіз динаміки значень загальної світлосуми у травмованих щурів показує, що при застосуванні ацетилцистеїну ступінь вільнорадикального окиснення фосфоліпідів зменшується в усі терміни експерименту в середньому на 30 % відносно контролю. Важливо, що на 6-й добі експерименту в групі щурів, яким вводили ацетилцистеїн, значення S нижчі, ніж у референтній групі, на 18 % і не мають вірогідної ( $P > 0,05$ ) різниці з інтактною серією.

Отже, дані, отримані в ході експерименту, свідчать про здатність ацетилцистеїну проявляти антирадикальні властивості за умов неконтрольованих вільнорадикальних реакцій в організмі щурів із ЗЧМТ і, таким чином, стабілізувати процеси генерації вільних радикалів, що модифікують структуру ненасичених жирних кислот і, врешті-решт, запобігати розвитку оксидативного стресу в посттравматичному періоді екстремального стану, що вивчається.

## Висновок

Підсумовуючи результати проведеного БХЛ-аналізу фармакотерапевтичної ефективності ацетилцистеїну за умов ЗЧМТ, є всі підстави констатувати, що на фоні травми відбувається різке пошкодження окиснювального гомеостазу у бік інтенсифікації генерації та нагромадження прооксидантних агентів при одночасному збільшенні витрачання ендогенних антиоксидантів на нейтралізацію продуктів ПОЛ, що утворюються у надмірній кількості. Звісно, що такий стан речей потребує своєчасної та адекватної фармакологічної корекції. Експериментально доведено, що застосування ацетилцистеїну з лікувальною метою за умов модельованої гострої форми травматичної хвороби мозку суттєвим чином запобігає розгалуженню ланцюгових вільнорадикальних реакцій, на що вказують зміни кінетики всіх параметрів надслабкого світіння.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Опыт применения стратегии нейропротекции при лечении тяжелой черепно-мозговой травмы в условиях городской больницы* / В. И. Черный, А. Н. Колесников, Г. А. Городник [и др.] // Патология. – 2010. – Т. 7, № 3. – С. 4–12.
2. *Изменение показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы крови и мозга при тяжелой механической травме и сопутствующем гипотиреозе* / Ю. Я. Крюк, А. В. Махнева, С. Е. Золотухин [и др.] // Экспериментальная і клінічна медицина. – 2010. – № 4 (49). – С. 14–20.
3. *Лук'яничук В. Д. Роль корвітину в процесах антиоксидантного захисту при закритій черепно-мозковій травмі* / В. Д. Лук'яничук, О. В. Садовник // Ліки. – 2007. – № 5/6. – С. 69–74.

4. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рекомендації / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіценна, 2002. – 567 с.

5. Пат. 13678, Україна, МПК (2006) G09B 23/28. Спосіб моделювання черепно-мозкової травми / Лук'яничук В. Д., Шевчук О. В., Бадінов О. В. ; заявник та патентовласник Луг. держ. мед. ун-т. – № u200509483 ; заявл. 10.10.05 ; опубл. 17.04.06, Бюл. № 4. – 8 с.

6. Федорова В. С. Експериментально-математичний аналіз і оптимізація режиму дозування ацетилцистеїну

при закритій черепно-мозковій травмі / В. С. Федорова, Д. С. Кравець, В. Д. Лук'яничук // Український біофармацевтичний журнал. – 2011. – № 2 (13). – С. 37–45.

7. Іванюшко В. Л. Оптимізація надання допомоги потерпілим з черепно-мозковою травмою / В. Л. Іванюшко, І. А. Павленко // Практична медицина. – 2006. – Т. 12, № 4. – С. 27–33.

8. Біохемілюмінесцентний аналіз фармакодинаміки лікарських засобів : метод. рекомендації / уклад. : В. Д. Лук'яничук, Д. С. Кравець [та ін.]. – К., 2010. – 44 с.

УДК 612.1:616.831-005.1-08:661.718.6:616-092.9

І. О. Житіна

## БІОХЕМІЛЮМІНОМЕТРИЯ СИРОВАТКИ КРОВІ ТА ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНІЙ НЕДОСТАТНОСТІ ТА ЛІКУВАННІ ОК-7

*Державний заклад «Луганський державний медичний університет»,  
Луганськ, Україна*

УДК 612.1:616.831-005.1-08:661.718.6:616-092.9

И. А. Житина

## БИОХЕМИЛУМИНОМЕТРИЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ И ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И ЛЕЧЕНИИ ОК-7

*Государственное учреждение «Луганский государственный медицинский университет»,  
Луганск, Украина*

Полученные в эксперименте данные свидетельствуют об уменьшении интенсивности свободнорадикальных реакций при использовании с лечебной целью в условиях острой цереброваскулярной недостаточности координационного соединения германия, калия и лимонной кислоты (ОК-7). Это позволяет утверждать, что для ОК-7 характерны ярко выраженные антирадикальные свойства.

**Ключевые слова:** острая цереброваскулярная недостаточность, свободнорадикальные реакции, биохемилуминесценция, координационное соединение германия.

UDC 612.1:616.831-005.1-08:661.718.6:616-092.9

I. O. Zhytina

## BIOCHEMILUMINOMETRY OF BLOOD SERUM AND BRAIN WITH CEREBROVASCULAR INSUFFICIENCY AND TREATMENT WITH OK-7

*A state institution "The Lugansk State Medical University", Lugansk, Ukraine*

The data obtained in the experimental show a decrease in intensity of free-radical reactions during application of coordination compounds of germanium, potassium and citric acid (OK-7) for therapeutic purposes under conditions of acute cerebrovascular insufficiency. This is the grounds to confirm that OK-7 has a very pronounced antiradical properties.

**Key words:** acute cerebrovascular insufficiency, free-radical reactions, biochemiluminescence, coordination compounds of germanium.

Судинна патологія головного мозку залишається найважливішою проблемою клінічної та експериментальної медицини. Це пов'язано з широкою розповсюдженістю судинних захворювань мозку, високою смертністю внаслідок гострих порушень мозкового кровообігу та тяжкою стійкою інвалідизацією хворих [1]. На частку ішемічного інсульту припадає 65 % у загальній популяції населення з цереброваскулярними захворюваннями [2]. В Україні кожні 4,5 хв реєструється новий випадок інсульту, і лише 20 % пацієнтів після інсульту повертаються до попередньої роботи [3]. Засоби фармакотерапії цереброваскулярної патології, які зараз існують, далеко не завжди відповідають вимогам як у плані ефективності, так і лікарської безпеки.

Отже, пошук і розробка високоефективних та безпечних церебропротекторів є одним із пріоритетних напрямів сучасної медичної науки і, у першу чергу, фармакології.

Раніше на моделі гострого ішемічного інсульту нами було встановлено, що високу фармакотерапевтичну ефективність серед уперше синтезованих координаційних сполук германію з гідроксокислотами проявляє сполука германію, калію та лимонної кислоти (лабораторний шифр — ОК-7) [4].

Гостра ішемія головного мозку запускає складну послідовність вільнорадикальних реакцій, що ініціюють швидке формування оксидативного стресу. Це, значною мірою, пов'язано з неефективністю функціонування антиоксидантних систем організму, їх виснаженням і не-