

10. *Ассоциация* полиморфных генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с предрасположенностью к бронхиальной астме у детей с наследственной отягощенностью и без таковой / В. А. Вавилин, С. И. Макарова, В. В. Ляхович, С. М. Гавалов // *Генетика*. — 2002. — Т. 38, № 4. — С. 539-545.

11. *Фетисова И. Н.* Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз в семьях с первичным бесплодием / И. Н. Фетисова // *Медицинская генетика*. — 2006. — Т. 5, № 11 (53). — С. 31-34.

12. *Ляхович В. В.* Роль ферментов биотрансформации ксенобиотиков в предрасположенности к бронхиальной астме и формировании особенностей ее клинического фенотипа / В. В. Ляхович, В. А. Вавилин, С. И. Макарова // *Вестник РАМН*. — 2000. — № 12. — С. 36-41.

13. *Glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and colorectal cancer risk: a prospective study* / D. M. Gertig, M. Stampfer, C. Haiman [et al.] // *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. — Vol. 7, Issue 11. — P. 1001-1005.

14. *Pooled analysis and meta-analysis of glutathione S-transferase M1 and bladder cancer* / L. S. Engel, E. Taioli, R. Pfeiffer [et al.] // *A HuGE review. Am. J. Epidemiol.* — 2002. — Vol. 156. — P. 95-109.

15. *Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations* / S. Garte, L. Gaspari, A. K. Alexandrie [et al.] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* — 2001. — Vol. 10. — P. 1239-1248.

16. *Glutathione-S-Transferase Polymorphisms and Colorectal Cancer: A Huge Review* / S. C. Cotton, L. Sharp, J. Little, N. Brockton // *American Journal*

of Epidemiology. — 2000. — Vol. 151, N 1. — P. 7-32.

17. *The Glutathione S-Transferase M1 Genotype in Ovarian Cancer* / Thomas A. Lallas, Sarah K. McClain, Mark S. Shahin, Richard E. Buller // *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. — 2000, June. — Vol. 9. — P. 587-590.

18. *Glutathione S-transferase mu locus: use of genotyping and phenotyping assays to assess association with lung cancer susceptibility* / S. Zhong, A. F. Howie, B. Ketterer [et al.] // *Carcinogenesis*. — 1991. — Vol. 12. — P. 1533-1537.

19. *A Multiplex Polymerase Chain Reaction Protocol for the Simultaneous Analysis of the Glutathione S-Transferase GSTM1 and GSTT1 Polymorphisms* / M. Arand, R. Muhlbauer, J. Hengstler [et al.] // *Analytical biochemistry*. — 1996. — Vol. 236. — P. 184-186.

УДК 575.174.015.3:577.152.2]-053(477.74)

О. О. Сметюк, М. М. Чеснокова, Ю. І. Бажора  
ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ  
ГЛУТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗ M1 І T1 У МЕШКАНЦІВ  
ОДЕСЬКОЇ ОБЛАСТІ

У роботі наведені результати частоти, з якою виявляються делеції генів глутатион-S-трансфераз M1 (*GSTM1*) і T1 (*GSTT1*) у різних вікових групах мешканців Одеської області. Встановлено, що в старшій віковій групі (65 років і більше) зі збільшенням віку частота делеції *GSTT1* суттєво змінюється.

**Ключові слова:** глутатион-S-трансфераза, *GSTM1*, *GSTT1*, генний поліморфізм.

UDC 575.174.015.3:577.152.2]-053(477.74)

О. О. Smetyuk, M. M. Tchesnokova, Yu. I. Bazhora  
AGE PECULIARITIES OF POLYMORPHISM OF  
GENES OF M1 AND T1 GLUTATHIONE-S-TRANSFERASES  
IN ODESSA REGION HABITANTS

The work expounds the investigation results of deletion frequency of glutathione-S-transferases M1 (*GSTM1*) and T1 (*GSTT1*) that is met in habitants of Odessa region. The deletion frequency of *GSTT1* in the group of elderly people (65 years and more) was determined to change significantly simultaneously with the increase of age.

**Key words:** glutathione-S-transferase, *GSTM1*, *GSTT1*, gene polymorphism.

УДК 615.31:547.588.21]:616.831-005.4-092.9

С. А. Моргунцова,  
І. Ф. Бєленічев, д-р біол. наук, проф.,  
А. В. Абрамов, д-р мед. наук, проф.

## ВПЛИВ ПОХІДНОГО ТІОХІАЗОЛІНУ NC-224 НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕЙРОНІВ СЕНСОМОТОРНОЇ ЗОНИ КОРИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ У ЩУРІВ З НЕОБОРОТНОЮ БЛАТЕРАЛЬНОЮ ОКЛЮЗІЄЮ ЗАГАЛЬНИХ СОННИХ АРТЕРІЙ

*Запорізький державний медичний університет*

Ішемічний інсульт порівняно з іншими нейродеструктивними процесами характеризується низкою особливостей, серед яких описуються не тільки первинні, а й вторинні ушкодження, що залежать від дислокації мозкових структур [1]. Серед та-

ких змін можуть бути: спадання малих артеріол, набухання клітин та окремих структур, просвітління цитоплазми чи каріоплазми [2].

При зниженні мозкового кровообігу до 35 мл/100 г тканини/хв відбувається первинна

реакція організму у вигляді пригнічення білкового синтезу, за відсутності змін — перехід на анаеробний гліколіз. Якщо зниження мозкового кровообігу переходить межу 20 мл/100 г тканини/хв, спостерігається енергетична нестача і порушується

цілісність мембран нейронів, запускається низка процесів, що можуть призвести до некрозу й апоптозу клітин в осередках ішемії. Ішемічний інсульт провокує також зниження ферментів антиоксидантного захисту й одночасно зменшення кількості антиоксидантів водорозчинної та жиророзчинної природи [3–5]. Поряд із цим відбувається підвищення концентрації іонів  $Ca^{2+}$  у нейронах, активація кальцієзалежної фосфоліпази, вивільнення та окиснення арахідонової кислоти. Наслідком цих процесів є підвищення вмісту лейкотрієнів, простагландинів. Це, в свою чергу, призводить до полегшення проникнення молекул води через гематоенцефалічний бар'єр і набухання мозку. Порушується морфофункціональна стабільність нервової тканини.

Нааявний ряд фармакологічних препаратів нейропротекторного профілю не задовольняє існуючі потреби у лікуванні ішемічних інсультів. Поряд з тим відомо, що використання нейропротекторів у ранні терміни ішемії є одним із найоптимальніших методів у лікуванні патогенезу мозкових інсультів.

**Метою** нашого дослідження є вивчення нейропротекторного ефекту похідного тіохіназоліну NC-224 при моделюванні гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК).

#### **Матеріали та методи дослідження**

У роботі досліджено похідне тіохіназоліну NC-224, яке було синтезоване на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету (завідувач кафедри, д-р фарм. наук, проф. І. А. Мазур). Дослідження проводили на білих щурах лінії Вістар масою 170–200 г, отриманих із розплідника ІФТ АМН України. Усі дослідні маніпуляції та оперативні втручання здійснювали відповідно до «Положення про використання лабораторних тварин у біомедичних дослідженнях». Гостре порушення мозкового кровообігу спричинювали необоротною двобічною ок-

люзією загальних сонних артерій. Оперативне втручання проводили під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг), шляхом хірургічного доступу виділяли загальні сонні артерії, підводили під них шовкові лігатури та перев'язували [6].

Тварин було розділено на 5 експериментальних груп по 20 особин. Перша група — псевдооперовані тварини; друга — з ГПМК (контрольна); третя — з ГПМК, яким вводили пірацетам (500 мг/кг); четверта — з ГПМК, яким вводили N-w-нітро-L-аргінін (10 мг/кг); п'ята — з ГПМК, яким вводили NC-224 (25 мг/кг).

Препарати вводили внутрішньочеревинно зразу ж після виведення тварин з-під наркозу та 1 раз на добу протягом 4 діб (гострий період), та протягом 18 діб (відновлювальний період). Кожного дня визначали неврологічний статус тварин за шкалою McGrow [7]. Тяжкість стану визначали за сумою балів: до 3 балів — легкий стан, від 3 до 7 балів — середній, від 7 балів і вище — тяжкий стан. Відзначено парези, параліч кінцівок, тремор, манежні рухи, птоз, положення на боці, рухливість. Як прояв неврологічного дефіциту розглядали утримання шурів на стрижні діаметром 15 см зі швидкістю його обертання 3 об/хв. Тварин тестували щодня та виставляли суму балів. Після закінчення вказаних термінів тварин виводили з експерименту під етамінал-натрієвим наркозом шляхом декапітації. В експериментальних тварин вивільняли мозок, фіксували його у 10%-му розчині Буена (24 год) і за стандартною схемою заливали у парафінові блоки, з яких потім готували серійні фронтальні 5-мікронні гістологічні зрізи у ділянці постцентральної звивини (соматосенсорна кора). Для вивчення морфофункціонального стану нейронів IV–V шарів кори гістологічні зрізи депарфінували за стандартною методикою і забарвлювали галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсоном для специфічного виявлення РНК [8]. Зображення

кори головного мозку отримували на мікроскопі Axioskop (Zeiss, Німеччина) та з допомогою 8-бітної CCD-камери COHU-4922 (COHU Inc., США) вводили до комп'ютерної системи аналізу зображень VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина). Морфометричний аналіз клітин здійснювали в автоматичному режимі за допомогою макропрограми, розробленої у спеціалізованому середовищі програмування VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина) [9].

Визначали такі показники:

— щільність нейронів, гліальних клітин, апоптичних і деструктивних нейронів (кількість клітин на  $1\text{мм}^2$  площі зрізу кори мозку);

— площу тіл нейронів, апоптичних і деструктивно змінених нейронів (у квадратних мікрометрах —  $\text{мкм}^2$ );

— концентрацію РНК у нейронах, апоптичних і деструктивно змінених нейронах (одиниці оптичної щільності,  $O_{\text{opt}}$ ), які розраховували як логарифм відношення оптичної щільності тіла клітини до оптичної щільності міжклітинної речовини.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням пакета статистичних програм "Statistica 4.0" (Statistica Inc., США).

#### **Результати дослідження та їх обговорення**

Двобічне перев'язування загальних сонних артерій спричинило тяжкі неврологічні зміни у тварин: паралічі, парези, птоз — з максимальним виявленням на 4-ту добу. Так, у цей термін середній бал за шкалою McGrow становив 19,7 бала, що відповідало тяжкому стану неврологічної симптоматики. На 4-ту добу в контрольній групі вижило 30 % тварин. Уведення щурів із ГПМК досліджуваних сполук NC-224, N-w-нітро-L-аргініну, пірацетаму створювало нейропротекторний ефект, про що свідчило зменшення летальності на 18-ту добу експерименту. Призначення сполуки NC-224 приводило до більш чіткого, порівняно з іншими речовинами, ефекту. Дані речовини зменшу-

вали розвиток неврологічного дефіциту, прискорювали відновлення неврологічного статусу тварин із білатеральним перев'язуванням, що свідчить про нейропротекторний ефект.

Ішемія призводила до зменшення щільності нейронів кори порівняно з інтактними тваринами, у яких даний показник становив  $(1281 \pm 34)$  нейрона на  $1 \text{ мм}^2$  площі зрізу кори. При цьому відзначалося вірогідне зменшення площі тіл нейронів зі зниженням у них вмісту РНК порівняно з інтактними тваринами (табл. 1). Двобічне перев'язування загальних сонних артерій знижувало щільність гліальних клітин у корі головного мозку і спричиняло вірогідне збільшення площі гліоцитів зі зниженням у них вмісту РНК. Це свідчить про пригнічення функціонального стану гліоцитів у відповідь на ішемічне ушкодження мозку (табл. 2). У корі мозку ішемізованих щурів збільшувалася кількість апоптичних і деструктивно змінених нейронів на 4-ту добу ішемії.

Експериментальна терапія тварин із ГПМК сполуками NC-224, пірацетаму, N-w-нітро-L-аргініну спричинила підвищення щільності нейронів у корі на 4-ту добу ішемії. У віддалені терміни ішемії, порівняно з групою контрольних (із ГПМК) щурів, досліджувані речовини сприяли підвищенню щільності нейронів і вмісту РНК. Досліджувані речовини вірогідно знижували кількість деструктивно й апоптично змінених нейронів у корі мозку щурів із ГПМК як на 4-ту, так і на 18-ту добу після оперативного втручання. Кількість апоптичних і деструктивно змінених нейронів при введенні пірацетаму тваринам із ГПМК не відрізнялася від показників у тварин контрольної групи у гострій період ішемії (4-та доба), але у віддалені терміни (18-та доба) він вірогідно знижував відсоток апоптичних нейронів, сприяв збереженню високої функціональної активності нейронів (табл. 3). Таким чином, пірацетам у гострій період мозкового інсульту не має

високого нейропротекторного ефекту, тому що впливає більше на анаеробне окиснення, здатний підсилювати явище лактацидозу, тим самим погіршуючи картину ішемії мозку, що у цілому доводиться результатом біохімічних експериментальних і клінічних досліджень [10]. Водночас, у відновлювальному періоді даний препарат підвищував щільність нейронів і гліальних клітин, що приводило до підвищення загальної щільності клітин щодо контрольних показників, і знижував відсоток апоптичних нейронів.

N-w-нітро-L-аргінін відзначався нейропротекторним ефектом, який полягає у здатності збільшувати щільність нейронів та їх площу, але краще це простежується все ж таки у відновлювальному періоді, що аналогічно дії пірацетаму. Разом із тим відомо, що N-w-нітро-L-аргінін має церебропротекторні властивості навіть у тому разі, коли трапилася затримка у терапії ішемічного інсульту до 24 год [4].

Таблиця 1

**Характеристика нейронів IV–V шарів кори головного мозку щурів з експериментальною ішемією,  $M \pm m$**

Група тварин	Щільність нейронів, клітин/ $\text{мм}^2$		Площа тіл нейронів, $\text{мкм}^2$		Вміст РНК у нейронах, $O_{\text{ощ}}$	
	4-та доба	18-та доба	4-та доба	18-та доба	4-та доба	18-та доба
Псевдооперовані тварини	$1281 \pm 34$	$1292 \pm 31$	$75,21 \pm 1,12$	$74,87 \pm 1,32$	$9,69 \pm 0,15$	$9,72 \pm 0,14$
Тварини з ГПМК	$1065 \pm 27$	$1082 \pm 19$	$63,15 \pm 0,90$	$63,12 \pm 0,80$	$5,4 \pm 0,2$	$5,5 \pm 0,6$
Тварини з ГПМК + NC-224	$1108 \pm 21^*$	$1233 \pm 28^*$	$69,97 \pm 0,80$	$72,12 \pm 0,90^*$	$6,87 \pm 0,15^*$	$8,91 \pm 0,21^*$
Тварини з ГПМК + пірацетам	$1060 \pm 38$	$1163 \pm 26^*$	$63,46 \pm 0,80$	$68,71 \pm 0,93^*$	$5,73 \pm 0,18$	$8,03 \pm 0,23^*$
Тварини з ГПМК + N-w-нітро-L-аргінін	$1071 \pm 41$	$1193 \pm 28^*$	$67,71 \pm 0,90$	$72,21 \pm 1,10^*$	$5,6 \pm 0,2$	$8,32 \pm 0,11^*$

Примітка. У табл. 1–3: \* —  $P < 0,05$  порівняно з тваринами з ГПМК.

Таблиця 2

**Характеристика гліоцитів IV–V шарів кори головного мозку щурів з експериментальною ішемією,  $M \pm m$**

Група тварин	Щільність гліальних клітин, клітин/ $\text{мм}^2$		Площа тіл гліальних клітин, $\text{мкм}^2$		Вміст РНК у гліальних клітинах, $O_{\text{ощ}}$	
	4-та доба	18-та доба	4-та доба	18-та доба	4-та доба	18-та доба
Псевдооперовані тварини	$418 \pm 21$	$421 \pm 14$	$20,50 \pm 0,19$	$20,70 \pm 0,24$	$3,34 \pm 0,07$	$3,31 \pm 0,05$
Тварини з ГПМК	$396 \pm 11$	$410 \pm 11$	$21,20 \pm 0,11$	$21,80 \pm 0,17$	$1,05 \pm 0,02$	$1,03 \pm 0,02$
Тварини з ГПМК + NC-224	$417 \pm 12^*$	$507 \pm 15^*$	$22,10 \pm 0,11^*$	$23,80 \pm 0,10^*$	$2,07 \pm 0,03^*$	$2,77 \pm 0,04^*$
Тварини з ГПМК + пірацетам	$407 \pm 19^*$	$435 \pm 14^*$	$21,70 \pm 0,28$	$22,30 \pm 0,18^*$	$1,25 \pm 0,02^*$	$1,89 \pm 0,03^*$
Тварини з ГПМК + N-w-нітро-L-аргінін	$407 \pm 11^*$	$453 \pm 12^*$	$21,80 \pm 0,16$	$22,90 \pm 0,21^*$	$1,28 \pm 0,03^*$	$2,33 \pm 0,04^*$

**Щільність апоптичних і деструктивно змінених клітин  
IV–V шарів кори головного мозку щурів  
з експериментальною ішемією,  $M \pm m$**

Група тварин	Щільність клітин на 1 мм <sup>2</sup>		Частка апоптичних і деструктивно змінених клітин, %	
	4-та доба	18-та доба	4-та доба	18-та доба
Псевдооперовані тварини	52±9	53±7	2,5±0,1	2,8±0,2
Тварини з ГПМК	394±18	287±18	18,45±0,80	14,36±0,70
Тварини з ГПМК + NC-224	157±17*	117±12*	8,7±0,4*	5,3±0,4*
Тварини з ГПМК + пірацетам	438±29*	153±18*	16,3±1,7	7,4±0,5*
Тварини з ГПМК + N-w-нітро-L-аргінін	236±12*	128±14*	11,7±0,7*	6,8±0,3*

Чітким нейропротекторним ефектом як у гострому, так і у відновлювальному періоді експериментального інсульту характеризується NC-224. Характер його дії на нейроглию при ГПМК проявлявся значним зниженням руйнування нейронів і гліальних клітин у корі мозку, підвищенням їх морфофункціональної активності (підвищення вмісту РНК), гальмування апоптозу.

### Висновки

1. Сполуки NC-224, N-w-нітро-L-аргінін і пірацетам зменшують розвиток неврологічного дефіциту, прискорюють відновлення неврологічного статусу тварин з білатеральним пере-

в'язуванням, що свідчить про нейропротекторний ефект.

2. Досліджувані речовини знижують кількість деструктивно й апоптично змінених нейронів у корі мозку щурів із ГПМК як на 4-ту, так і на 18-ту добу після оперативного втручання.

3. Пірацетам у гострому періоді мозкового інсульту не має високого нейропротекторного ефекту. Позитивно характеризується під час відновлювального періоду.

4. Сполука NC-224 має нейропротекторний ефект як у гострому, так і у відновлювальному періоді експериментального інсульту: знижує руйнування нейронів і гліальних клітин у корі мозку, підвищує їх морфофункціональну активність.

1. Туманский В. А. Патологическая анатомия и последствия внутричерепной дислокации головного мозга / В. А. Туманский // Запорожский медицинский журнал. — 2002. — № 3. — С. 30.

2. Карповські читання : 2-га Всеукр. наук. морфолог. конф. Дніпропетровськ, 12-15 квітня 2005 р. : матеріали ; за ред. проф. І. В. Твердохліба. — Дніпропетровськ : Пороги, 2005. — 93 с.

3. Бєленічев І. Ф. Антиоксидантна система захисту організму / І. Ф. Бєленічев, Е. Л. Левицький, Ю. І. Губський // Современные проблемы токсикологии. — 2003. — № 2. — С. 32-38.

4. Бєленічев І. Ф. Рациональная нейропротекция / И. Ф. Бєленічев, В. И. Черний, Ю. М. Колесник. — Донецк : Изд. Дом Заславского, 2009. — 267 с.

5. Болдырев А. А. Роль активных форм кислорода в жизнедеятельности нейрона / А. А. Болдырев // Успехи физиологических наук. — 2003. — Т. 34, № 3. — С. 21-34.

6. Бєленічев І. Ф. Експериментальні моделі ішемії головного мозку у фармакологічних дослідженнях / І. Ф. Бєленічев, Н. В. Бухтіярова, Л. О. Громов // Ліки. — 2006. — № 3, 4. — С. 11-19.

7. McGrow C. P. Experimental Cerebral Infarction Effects of Pentobarbital in Mongolian Gerbils / С. P. McGrow // Arch. Neurol. — 1977. — Vol. 34, N 6. — P. 334-336.

8. Пирс Э. Гистохимия / Э. Пирс. — М., 1962. — 962 с.

9. Kolesnik Y. M. Image analysis system for quantitative immunofluorescence measurement / Y. M. Kolesnik, M. A. Orlovsky // Microscopy and Analysis. — 2002. — № 5. — P. 12-16.

10. Гусев Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. — М. : Медицина, 2001. — 328 с.

УДК 615.31:547.588.21]:616.831-005.4-092.9

С. А. Моргунцова, І. Ф. Бєленічев, А. В. Абрамов

**ВПЛИВ ПОХІДНОГО ТІОХІНАЗОЛІНУ NC-224 НА  
МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕЙРОНІВ  
СЕНСО-МОТОРНОЇ ЗОНИ КОРИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ У ЩУРІВ  
З НЕОБОРОТНОЮ БІЛАТЕРАЛЬНОЮ ОКЛЮЗІЄЮ ЗАГАЛЬНИХ  
СОННИХ АРТЕРІЙ**

Ішемічний інсульт характеризується деякими особливостями, серед яких описуються не тільки первинні, а і вторинні ушкодження, що залежать від дислокації мозкових структур. Порушується загальна морфофункціональна цілісність нервової тканини. Існуючий ряд фармакологічних препаратів нейропротекторного профілю не задовольняє існуючі потреби у лікуванні ішемічних інсультів. Визначали щільність нейронів, гліальних клітин, апоптичних і деструктивних нейронів, площу тіл нейронів, концентрацію РНК у нейронах.

**Ключові слова:** ішемічний інсульт, нейропротектор, нейрон, деструктивні зміни.

UDC 615.31:547.588.21]:616.831-005.4-092.9

S. A. Morguntsova, I. F. Belenichev, A. V. Abramov

**INFLUENCE OF DERIVATIVE THIOCHINAZOLINE  
NC-224 ON THE MORPHOLOGICAL FUNCTIONAL  
CHARACTERISTICS OF NEURONS OF CEREBRAL  
CORTEX SENSOMOTOR AREA IN RATS WITH  
IRREVERSIBLE BILATERAL OCCLUSION OF COMMON  
CAROTID ARTERIES**

Ischemic stroke is characterized by a range of peculiarities to which belong not only primary but also secondary injuries that depend on the dislocation of cerebral structures. General morphological functional integrity of neural tissue is distorted. Existing range of pharmaceutical preparations of neuroprotective profile does not satisfy current needs in treatment of ischemic strokes. Density of neurons, glia cells, apoptotic and destructive neurons, square of neurocytons, apoptotic and destructive changed neurons, concentration of RNA in neurons have been defined.

**Key words:** Ischemic stroke, neuroprotector, neuron, destructive changes.