

Р. О. Шеремета, Г. І. Степанюк, В. П. Новіков, Н. Г. Марінцова

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ ВПЛИВ КАЛІЄВОЇ СОЛІ 2- $\alpha$ -АЛАНІНО-3-ХЛОР-1,4-НАФТОХІНОНУ І КАВІНТОНУ НА ПРОЦЕСИ ЛІПІДПЕРЕОКИСНЕННЯ В ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ З ГОСТРИМ ПОРУШЕННЯМ МОЗКОВОГО КРОВОТОКУ

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова

Дослідженнями останніх років встановлено, що в основі патогенезу ушкодження тканини мозку на фоні гострої фокальної церебральної ішемії лежить каскад складних патобіохімічних реакцій, які можуть призвести до виникнення інфаркту мозку. При цьому пусковим фактором є церебральна гіпоксія, яка, як правило, має місце при гострому порушенні мозкового кровотоку (ГПМК). Зниження надходження в нейрони молекул кисню та підвищення рівня відновлення компонентів дихального ланцюга стимулює відновлення кисню за одноелектронним шляхом з утворенням вільних радикалів (супероксид-аніона, пероксильного та гідроксильного радикалів) разом з оксидантами нерадикальної природи (перекису водню та аніона гіпохлориту).

Активация процесів вільнорадикального окиснення, що має місце за умов гострої церебральної ішемії, як відомо, ініціює ланцюгові процеси перекисного окиснення в мембранних ліпідах. Високотоксичні сполуки (ДК, шифові основи, МДА та ін.), які утворюються при активації ПОЛ, призводять до ушкодження мембран та клітинних структур і разом з енергодефіцитом та метаболічним ацидозом, які виникають при даному патологічному стані, сприяють виникненню некрозу мозкової тканини [6; 7].

Сучасна концепція нейропротекції за умов ГПМК спря-

мована на розробку методів, які б запобігали ушкодженню і загибелі нервових клітин на фоні ішемії та гіпоксії. Згідно з точкою зору багатьох дослідників [3; 5], лікарські препарати, які використовуються нині або створюються як нейропротекторні засоби, повинні мати комплексний вплив на кілька ключових ланок зазначеного патобіохімічного каскаду. Важливою властивістю таких церебропротекторів поряд з протиішемічною дією повинна бути наявність антиоксидантного ефекту.

З огляду на це, нами взято для дослідження антиоксидантних властивостей нове похідне 1,4-нафтохінону (калієва сіль 2- $\alpha$ -аланіно-3-хлор-1,4-нафтохінону), що, за попередніми даними, дозою 4 мг/кг в/в вдвічі перевершувало кавінтон (5 мг/кг в/в) як за величиною, так і за тривалістю стимулюючого впливу на мозковий кровотік в інтактних наркотизованих щурів і не поступалось пірацетаму (100 мг/кг в/о) за ступенем зниження показника летальності тварин із ГПМК, спричиненого двобічним перев'язуванням загальних сонних артерій у наркотизованих щурів (отримано позитивне рішення на винахід). У доступній літературі нами не знайдено даних про антиоксидантні властивості кавінтону, який нині найбільш часто використовується як еталонний церебропротектор як в експериментальній, так і в клінічній

медицині, що й стало підставою для вибору його в якості референс-препарату. Специфічні антиоксиданти (дибунол,  $\alpha$ -токоферол та ін.) нами не використовувались, оскільки, за даними літератури, вони малоефективні при монотерапії ГПМК [4].

**Мета роботи** — охарактеризувати вплив калієвої солі 2- $\alpha$ -аланіно-3-хлор-1,4-нафтохінону (сполуки 17) та кавінтону на стан оксидантно-антиоксидантної рівноваги в головному мозку щурів із ГПМК як можливого механізму нейропротекторної дії.

### Матеріали та методи дослідження

Під час дослідження використано субстанцію калієвої солі 2- $\alpha$ -аланіно-3-хлор-1,4-нафтохінону, синтезовану у Національному університеті «Львівська політехніка» під керівництвом проф. В. П. Новікова та ампульний розчин кавінтону (Ge-deon Richter, Угорщина).

Дослідження проводилися на 28 нелінійних щурах-самцях масою 160–200 г, розподілених на 4 групи по 7 тварин у кожній: 1-ша — інтактні щури; 2-га — тварини з ГПМК без лікування (контроль); 3-тя — тварини з ГПМК, яким вводили внутрішньоочеревинно сполуку 17 дозою 4 мг/кг (близько 1 % від ЛД<sub>50</sub>); 4-та — тварини з ГПМК, яким вводили внутрішньоочеревинно кавінтон дозою 5 мг/кг, що, за даними нашої лабораторії, спричи-



нює достатньо виражену церебропротекторну дію [10]. Моделювали ГПМК у наркотизованих (нембутал 40 мг/кг) щурів шляхом однобічного перев'язування загальної сонної артерії. Препарати вводили зазначеними дозами щодня двічі на добу з інтервалом 5–6 год протягом 14 днів. Евтаназію тварин проводили передозуванням ефіру. Після декапітації тварин ішемізовану півкулю головного мозку виділяли в холодовій камері при температурі -2 °С і заморожували в рідкому азоті.

Інтенсивність ПОЛ оцінювали за вмістом початкових (дієнові кон'югати, ДК) та кінцевих (ТБК-активних, МДА) продуктів ліпідперекиснення [1; 8]. Стан антиоксидантної системи захисту організму в заданих умовах експерименту оцінювали шляхом визначення активності ключових компонентів ферментативної ланки — супероксиддисмутази (СОД) та каталази, які досліджували за методами відповідно [11; 9]. Для біохімічних досліджень використовували лобні частки кори ішемізованих півкуль. Цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

### Результати дослідження та їх обговорення

Гостре порушення мозково-го кровотоку, спричинене од-

нобічним перев'язуванням загальної сонної артерії у щурів, супроводжувалося в обидва терміни експерименту значною активацією ліпідперекиснення в клітинах головного мозку ішемізовані півкулі. Про це свідчило зростання рівня ДК та МДА відносно інтактних тварин (таблиця). Найбільшою мірою це було помітно на 5-ту добу експерименту: концентрація зазначених продуктів ПОЛ зроста відповідно на 115 та 72 %. В подальшому (на 15-ту добу дослідження) рівень ДК та МДА у нелікованих щурів знизився відносно попереднього терміну, однак залишався вірогідно підвищеним порівняно з інтактними тваринами.

Водночас на фоні активації процесів ПОЛ у щурів з ГПМК спостерігалось зниження активності ферментів антиоксидантного захисту (СОД та каталази), що найбільше було помітно на 5-ту добу експерименту: активність зазначених ферментів знизилася порівняно з інтактними тваринами відповідно на 62 та 58 % ( $P < 0,05$ ). Зазначені зміни в досліджуваних показниках антиоксидантної системи, які виникли в головному мозку щурів з ГПМК, зберігались і на 15-ту добу спостереження, однак були менш вираженими, ніж у попередній термін експерименту (див. таблицю). Виявлені нами зміни в оксидантно-антиокси-

дантному гомеостазі в головному мозку ішемізовані півкулі щурів цілком збігаються з даними інших дослідників в аналогічних умовах [2; 4].

Експериментальна терапія ГПМК у щурів за допомогою сполуки 17 так само, як і кавінтону, викликала пригнічення процесів ліпідперекиснення. Це чітко проявилось вже на 5-й день спостереження і було більш вираженим на фоні дії сполуки 17. У зазначений термін експерименту під впливом досліджуваного похідного 1,4-нафтохінону мало місце вірогідне зменшення рівня ДК та МДА відповідно на 33 та 21,4 % порівняно з нелікованими тваринами. Під дією кавінтону вміст первинних та кінцевих продуктів ПОЛ знизився відповідно на 15,8 та 16,3 % ( $P > 0,05$ ). Водночас обидві речовини під час експерименту сприяли відновленню зниженої активності ферментів антиоксидантного захисту. При цьому сполука 17 діяла більш ефективно, ніж референс-препарат. Так, якщо під впливом похідного 1,4-нафтохінону активність СОД і каталази відносно нелікованих щурів з ГПМК вірогідно збільшилася відповідно на 68 та 81 %, то у відповідь на дію кавінтону активність зазначених ферментів на 5-ту добу експерименту зроста на 41,2 % ( $P < 0,05$ ) та 30,5 % ( $P > 0,05$ ).

Курсове дворазове введення сполуки 17, як і кавінтону,

Таблиця

Вплив сполуки 17 (4 мг/кг в/о) та кавінтону (5 мг/кг в/о) на динаміку показників оксидантно-антиоксидантної рівноваги в головному мозку щурів з ГПМК,  $M \pm m$ ,  $n=7$

Показники	Інтактні тварини	Ішемія без лікування (контроль)		Лікування сполукою 17		Лікування кавінтоном	
		5-та доба	15-та доба	5-та доба	15-та доба	5-та доба	15-та доба
ДК, мкМ/г тканини	1,34±0,08	3,42±0,24*	2,33±0,09*	2,30±0,12*#	1,48±0,06#	2,88±0,18*	1,55±0,16#
МДА, мкМ/г тканини	0,57±0,04	0,98±0,06*	0,78±0,05*	0,77±0,04*#	0,51±0,04#	0,82±0,05*	0,61±0,04#
СОД, у. о., мг білка/хв	216,2±19,6	82,3±6,6*	142,4±7,1*	138,1±9,2*#	198,4±13,6#	116,2±10,7*#	186,3±14,1#
Каталаза, мкат/мг білка/хв	5,62±0,44	2,36±0,32*	3,48±0,21*	4,27±0,33*#	5,76±0,42#	3,08±0,32*	5,51±0,44#

Примітка. \* —  $P \leq 0,05$  в інтактних тварин; # —  $P \leq 0,05$  порівняно з відповідним показником у контролі.



привело до повного відновлення окиснювального метаболізму на 15-ту добу спостереження: порівняно з нелікованими тваринами вірогідно зменшився вміст ДК та МДА, наближаючись практично до показників інтактних тварин. Водночас у кінці експерименту під впливом обох досліджуваних речовин помітно зросла активність ферментів антиоксидантної системи, практично збігаючись із відповідними показниками інтактних тварин. При цьому в кінці курсу терапії за ступенем нормалізуючого впливу на показники оксидантно-антиоксидантної рівноваги сполука 17 практично не відрізнялася від референс-препарату.

Оцінюючи результати проведеного дослідження, можна зробити висновок про те, що калієва сіль 2- $\alpha$ -аланіно-3-хлор-1,4-нафтохінону (4 мг/кг), як і кавінтон (5 мг/кг), при курсовому введенні в організм щурів з ГПМК проявляє антиоксидантні властивості. Про це свідчить спроможність обох речовин гальмувати в тканинах ішемізованого півкулі рівень як первинних, так і кінцевих продуктів ПОЛ при одночасному підвищенні активності ферментів АОС. При цьому похідне 1,4-нафтохінону діяло більш ефективно, ніж кавінтон на 5-ту добу експерименту — термін, який, за даними літератури [2], вважається критичним періодом ГПМК, оскільки супроводжується найбільшими змінами у показниках оксидантно-антиоксидантного гомеостазу та енергетичного забезпечення в клітинах ішемізованого головного мозку.

Виявлена нами спроможність калієвої солі 2- $\alpha$ -аланіно-3-хлор-1,4-нафтохінону інгібувати процеси ПОЛ шляхом підвищення активності ферментів АОС збігається з висновком інших дослідників [12] про те, що похідні 1,4-нафтохінону є носіями антиоксидантної активності. Можна та-

кож вважати, що саме ця властивість досліджуваного похідного 1,4-нафтохінону, як і кавінтону, у сполученні зі стимулюючим впливом на мозковий кровотік, є одним із механізмів їх нейропротекторної дії в умовах ГПМК.

### Висновки

1) Калієвій солі 2- $\alpha$ -аланіно-3-хлор-1,4-нафтохінону, як і кавінтону, притаманні антиоксидантні властивості.

2) Курсове призначення калієвої солі 2- $\alpha$ -аланіно-3-хлор-1,4-нафтохінону (4 мг/кг в/о), як і кавінтону (5 мг/кг в/о), двічі на добу щурам з ГПМК спричинює пригнічення процесів ПОЛ шляхом активації ферментів АОС (СОД та каталази) в ішемізованій півкулі головного мозку.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., Кишкун А. А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. — 1998. — № 11. — С. 41-46.

2. Башкін І. М. Фармакологічна корекція обмінних процесів при ішемії головного мозку. Експериментально-клінічне дослідження: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — К., 1994. — 28 с.

3. Белєнічев І., Сидорова І. Лікування церебральної патології: нові можливості // Ліки України. — 2004. — № 10. — С. 107-108.

4. Бухтіярова Н. В. Пошук речовин з антирадикальною і антиперекисною активністю серед похідних хіназолону-4 та 4-амнохіназолону: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — К., 2003. — 22 с.

5. Виленский Б. С., Семенова Г. М., Широков Е. А. Применение церебролизина при ишемическом инсульте // Журн. неврол. и психиатрии. — 1999. — № 4. — С. 65-69.

6. Механізми пошкодження ткани мозгу на фоні гострої фокальної церебральної ішемії / Е. І. Гусев, В. І. Скворцова, А. В. Коваленко, М. А. Соколов // Там же. — № 2. — С. 65-70.

7. Механізми пошкодження ткани мозгу на фоні гострої фокальної церебральної ішемії / Е. І. Гусев, В. І. Скворцова, Е. Ю. Журав-

лева, Е. В. Яковлева // Там же. — № 5. — С. 55-61.

8. Коган В. С., Орлов О. Н., Прилипко Л. Л. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов. — М.: Медицина, 1988. — 287 с.

9. Королюк М. А. Способ определения активности каталазы // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16-19.

10. Терапевтична ефективність вінборону при гострому порушенні мозкового кровотоку в експерименті / Г. І. Степанюк, О. В. Дякова, Н. І. Волощук та ін. // Ліки. — 2002. — № 5-6. — С. 59-62.

11. Чевари С., Чаба И., Сеней Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и методы ее определения в биологическом материале // Лаб. дело. — 1985. — № 11. — С. 678-681.

12. Юшкова В. В. Протиішемічні властивості амінокислотовмісних похідних 1,4-нафтохінону: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — К., 1999. — 19 с.

