



УДК 615.279:547.972.3:616.831.005-002.1-092.9

В. Ю. Слесарчук, В. Й. Мамчур

НЕЙРОПРОТЕКТОРНІ ЕФЕКТИ ПРЕПАРАТІВ КВЕРЦЕТИНУ ПРИ ГОСТРОМУ ПОРУШЕННІ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Дніпропетровська державна медична академія

Ішемічне ураження мозку є важливою медико-біологічною проблемою. Це захворювання посідає третє місце в світі за смертністю, а також є однією з найчастіших причин госпіталізації та тривалої інвалідизації [1]. Гостре порушення мозкового кровообігу (ГПМК) може призводити до необоротних ушкоджень нервової тканини або ризику розвитку подальших нейродегенеративних захворювань головного мозку. Ішемічні зрушення спричиняють послідовне зростання ознак порушення метаболізму. Ішемічне ушкодження головного мозку супроводжується тяжкими неврологічними розладами, такими як порушення когнітивних, моторних та інших функцій ЦНС [2].

Здатність зменшувати негативний вплив ішемії на метаболізм клітин нервової тканини та запобігати дистрофічним змінам (до нейрональної загибелі) властива лікарським засобам із різних фармакологічних груп. Нині активно проводиться пошук нових церебропротекторів. У патогенезі ішемічних уражень мозку одним із перших етапів є порушення балансу між збудливими та гальмівними нейротрансмітерними амінокислотами, розвиток стану ексайтотоксичності. Остання, в свою чер-

гу, зумовлює активацію перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), а також вивільнення та нагромадження Ca^{2+} в нейронах — процесів, що ведуть до загибелі клітин мозку [2]. Звідси впливає доцільність включення в комплексну терапію мозкових інсультів препаратів, які переривають каскад вільнорадикальних реакцій, — антиоксидантів [3; 4]. Особливої уваги в цьому плані заслуговує біофлавоноїд — кверцетин. Було продемонстровано, що кверцетин має властивості модулятора активності різних ферментів, які беруть участь у деградації фосфоліпідів, впливають на вільнорадикальні процеси та клітинний біосинтез оксиду азоту, активність протейназ тощо. Відомо, що він з успіхом використовується в клініці як кардіопротектор (при ішемічних ураженнях серця). Саме тому метою нашого дослідження було оцінити потенційні церебропротекторні ефекти препаратів кверцетину при експериментальній ішемії головного мозку. Кверцетин, як і багато інших рослинних антиоксидантів, не розчиняється у воді, має низьку біодоступність. Це не дозволяє йому швидко потрапляти до клітин-мішеней і проникати через фосфоліпідний бішар мем-

бран усередину клітини до ушкоджених клітинних утворень. Цю проблему розв'язали шляхом застосування фосфатидилхолінових везикул-ліпосом як транспортного засобу (препарату ліпофлавіон). Також була створена нова лікарська форма — комплекс кверцетину з полівінілпіролідом (препарат корвітин). Нам цікаво було порівняти церебропротекторну дію водорозчинної форми кверцетину — корвітину та ліпосомальної форми — ліпофлавіону. Спеціальна серія була присвячена дослідженням препарату ліпіну, що являє собою так звані «порожні» фосфатидилхолінові ліпосоми. Ліпін є родоначальником групи препаратів, у основі яких лежить репарація плазматичних клітинних мембран.

Матеріали та методи дослідження

У наших дослідженнях було використано 50 білих безпородних щурів масою (180 ± 20) г. Тварин утримували в стандартних умовах. Експериментальну модель ГПМК спричинювали двобічною перев'язкою загальних сонних артерій [5]. Ліпосомальну форму кверцетину — ліпофлавіон (виробництва ЗАТ «Біолек») і водорозчинну — корвітин (виробництва Борща-



гівського хіміко-фармацевтичного заводу) вводили внутрішньочеревинно дозою 5 мг/кг у перерахунку на кверцетин. Ліпін (виробництва ЗАТ «Біолек») — ліпосомальний препарат — вводили в об'ємі, аналогічному розведенню ліпофлавану.

Експериментальних тварин поділили на 5 груп по 10 тварин: псевдооперовані (інтактні) тварини, контрольна група та групи тварин, які отримували експериментальну терапію препаратами ліпіну, корвітину та ліпофлавану. Препарати вводили щодня в указаній дозі протягом 4 діб.

Критеріями оцінки протиішемічної (церебропротекторної) дії препаратів, що вивчалися, служили відсоток летальності тварин і терміни їх загибелі, а також динаміка клінічної картини ГПМК у порівняльному аспекті з контрольною групою (без введення препарату), визначення ступеня неврологічного дефіциту, дослідження поведінкових реакцій у тесті «відкрите поле». Стан тварин оцінювали впродовж 4 діб.

Неврологічний дефіцит у тварин визначали за шкалою Stroke-index С. Р. McGrow [6]. Тяжкість стану визначали за сумою відповідних балів: до 3 балів — легкий ступінь, від 3 до 7 — середній і від 7 балів і вище — тяжкий ступінь. Відзначали парези, паралічі кінцівок, тремор, манежні рухи, птоз, положення на боці, рухливість як прояв неврологічного дефіциту. Тварин тестували щодня, виставляючи відповідну суму балів.

У тварин, що вижили, оцінювали реакції орієнтовно-дослідної поведінки в тесті «відкрите поле» [7]. У тварин протягом 3 хв реєстрували горизонтальну (кількість перетнутих квадратів), вертикальну (кількість «стойок»), дослідну (кількість зазірань у «нірки») й емоційну активність (тривалість актів грумінгу та кількості болюсів дефекацій).

Статистичну обробку даних проводили за параметричним критерієм t-Стюдента за допомогою програми "Biostat" і MS Excel.

Результати дослідження та їх обговорення

Спостереження за фармакологічною активністю препаратів кверцетину та ліпіну в умовах модельованої форми ГПМК подані на рис. 1. Так, максимальний нейропротекторний ефект в умовах церебрального ішемічного інсульту препарат кверцетину — ліпофлаван проявляє вже на 1-шу добу — летальність у цій групі відсутня, тимчасом як у контрольній серії на кінець 1-ї доби виживає тільки 60 % тварин. Важливо відзначити, що на 3-тю добу спостереження летальність у групах, що отримували досліджувані препарати, відсутня. А от у контрольній групі вона становить 10 % (див. рис. 1). Дані експерименту дозволяють зробити висновок, що ліпосомальна форма кверцетину — ліпофлаван проявляє більш виражену протиішемічну активність, яка виявляється збільшенням відсотка виживаності щурів у зіставленні з контролем.

Спостереження за тваринами, що вижили, за шкалою

Stroke-index McGrow [6] показали, що впродовж 1-ї доби після двобічної перев'язки загальних сонних артерій реєструвалися тяжкі неврологічні зміни: паралічі, парези, птоз.

При цьому на 4-ту добу спостереження в контрольній групі тварин середній бал за шкалою С. Р. McGrow дорівнював $17,66 \pm 2,02$, що відповідає тяжкому ступеню неврологічної симптоматики (табл. 1), а виживаність дорівнювала 30 %. На противагу цьому, застосування антиоксидантів значно покращувало картину — вони помітно ослабляли у щурів прояви неврологічного дефіциту.

Так, введення щурам із ГПМК ліпофлавану справляло виражений нейропротекторний ефект. Починаючи з 2-ї доби, ліпофлаван уже на 48,33 % вірогідно знижував кількість тварин із тяжкою неврологічною симптоматикою. На 4-ту добу експерименту середній бал у цій групі становив $5,62 \pm 0,59$ (вірогідне зменшення проявів неврологічних розладів на 68,17 % порівняно з контролем). У групі тварин, що отримували корвітин, було зіставлене зменшення показників неврологічного дефіциту: на 4-ту добу експерименту на 62,0 % ($P < 0,05$) знизилася кількість тварин із тяж-

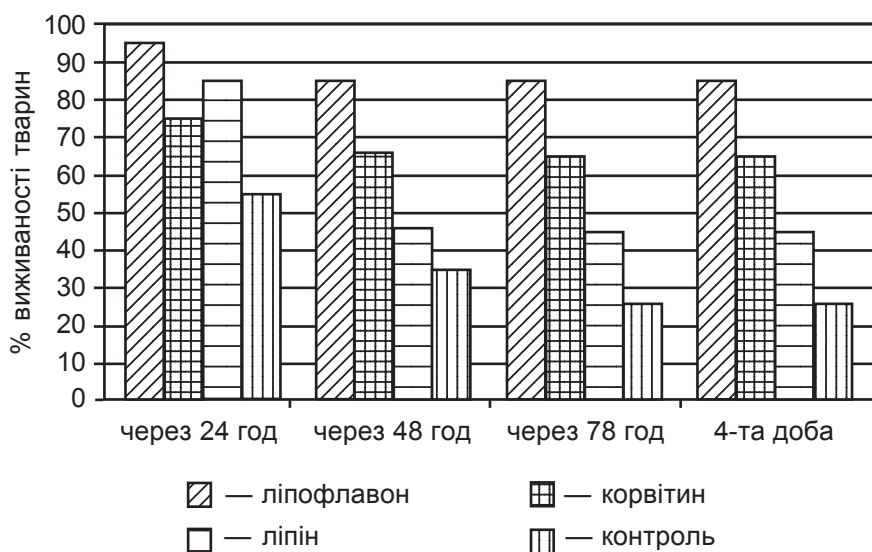


Рис. 1. Вплив препаратів кверцетину та ліпіну на динаміку виживаності щурів із гострою ішемією головного мозку



Таблиця

Вплив ліпофлаону, корвітину та ліпіну на розвиток неврологічного дефіциту в різні терміни після гострого порушення мозкового кровообігу, M±m

Група тварин	Середній бал за шкалою С. Р. McGrow			
	Через 24 год	Через 48 год	Через 72 год	4-та доба
Контроль	16,00±1,41	18,00±1,57	18,12±0,82	17,66±2,02
Ліпін, % відхилення від контролю	12,55±1,02 -21,56	12,50±1,18* -30,55	9,6±0,4* -47,02	9,6±0,6* -45,64
Ліпофлаон, % відхилення від контролю	11,45±0,88* -28,44	9,30±0,91* -48,33	6,88±0,53* -62,03	5,62±0,59* -68,18
Корвітин, % відхилення від контролю	13,75±1,22 -14,06	10,18±0,95* -43,44	8,57±0,78* -52,70	6,71±0,47* -62,00

Примітка. * — P<0,05 щодо контролю.

кою симптоматикою щодо контрольної групи. Введення ліпіну визначало позитивну динаміку зниження неврологічного дефіциту, починаючи вже з 1-ї доби, та було зіставляваним з дією ліпофлаону. Починаючи з 2-ї доби спостережень, середній бал у цій експериментальній групі становив 12,50±1,28, тим часом як у групі корвітину він становив 10,18±0,95. Однак корвітин і ліпін за силою нейропротекторного ефекту поступалися ліпофлаону.

Ці дані підтверджуються показниками тесту «відкрите поле», який проводився на 7-му добу після білатеральної перев'язки. Як і слід було очікувати, у тварин із порушенням мозковим кровообігом спостерігали зміни всіх компонентів поведінки порівняно з інтактними (псевдооперованими) тваринами. Встановлено значне зниження орієнтовно-дослідної активності у тварин контрольної групи: кількість горизонтальних рухів знизилася на 84,4 %, а

вертикальних — на 93 %, кількість зазирань у нірки знизилася на 70,4 % (P<0,05). У контрольних тварин також відмічався й дефіцит емоційності: наявність грумінгу та дефекацій вірогідно знижувалася на 76,1 і 87,8 % відповідно (рис. 2). Отже на 7-му добу спостереження відмічаються різко виражені порушення загальної рухової та дослідної активності, а також і емоційного компонента поведінки тварин.

Під впливом препаратів кверцетину та ліпіну відмічалось відновлення показників даного тесту. Так, ліпін і корвітин вірогідно підвищували кількість перетнутих «квадратів» щодо контрольної групи на 60 і 121,3 %, а кількість «підйомів» зроста в 5,5 і 6,9 рази. При цьому треба відзначити й відновлення дослідної активності на фоні введення ліпіну та корвітину на 50,4 і 60,9 % (P<0,05) відповідно (рис. 3 і 4). Отримані експериментальні дані щодо застосування ліпофлаону свідчать, що він краще за всі досліджувані препарати впливав на відновлення поведінкових реакцій тварин після ГПМК (рис. 5). Горизонтальна рухова активність підвищувалася на 194,3 % щодо контрольної групи (P<0,05). При цьому вертикальна актив-

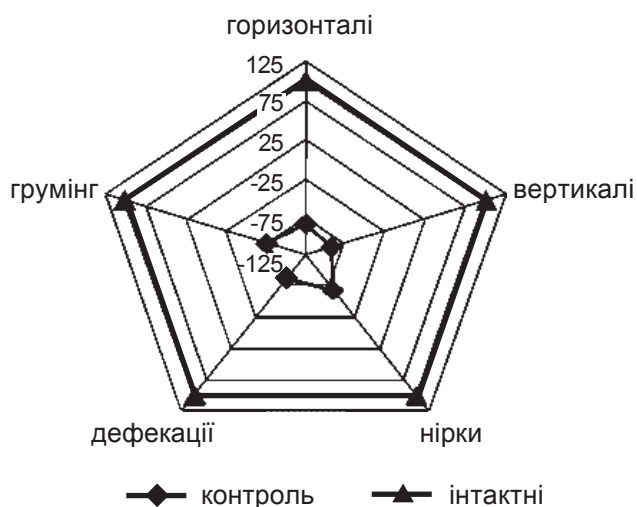


Рис. 2. Зміни поведінкових реакцій щурів на 7-му добу після гострого порушення мозкового кровообігу у тесті «відкрите поле»

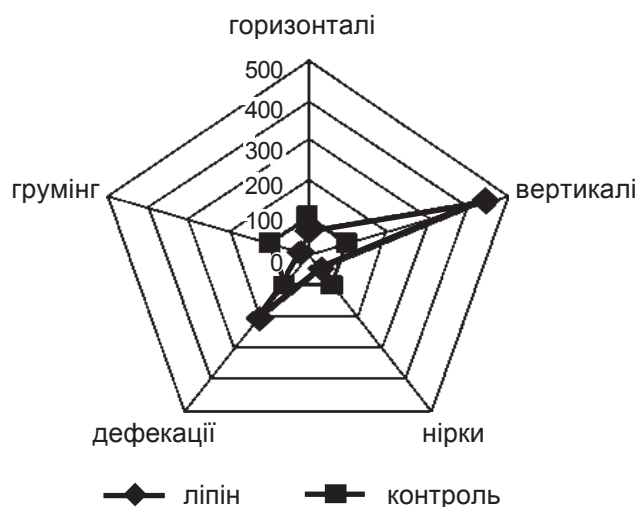


Рис. 3. Зміни поведінкових реакцій щурів на 7-му добу після гострого порушення мозкового кровообігу в тесті «відкрите поле» в умовах введення ліпіну



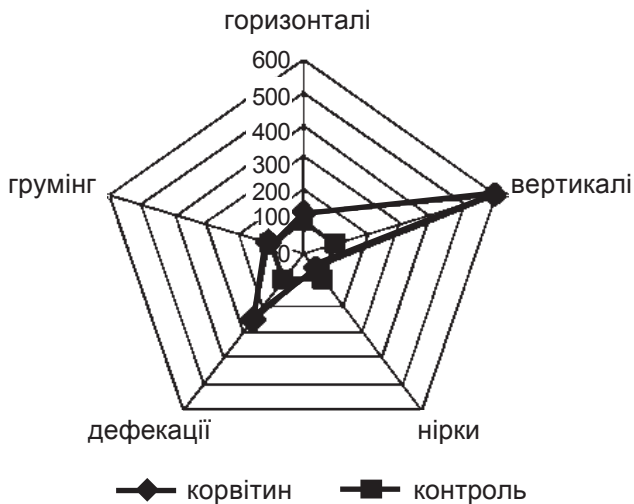


Рис. 4. Зміни поведінкових реакцій щурів на 7-му добу після гострого порушення мозкового кровообігу в тесті «відкрите поле» в умовах уведення корвітину

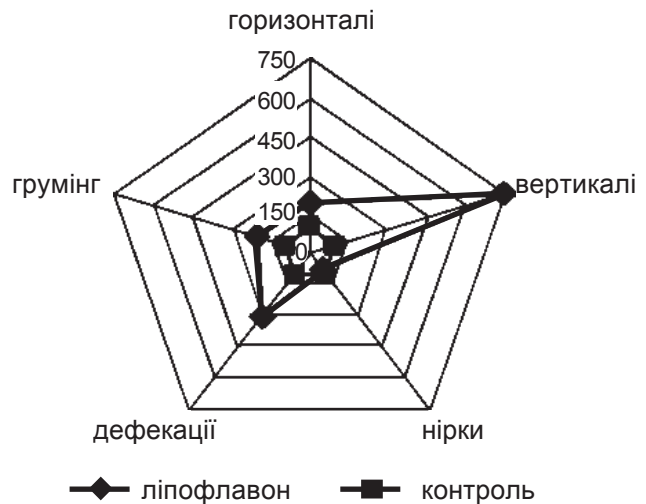


Рис. 5. Зміни поведінкових реакцій щурів на 7-му добу після гострого порушення мозкового кровообігу в тесті «відкрите поле» в умовах уведення ліпофлавону

ність зростала в 8,4 разу, а дослідна — на 83 % вірогідно до змін контрольної групи. При цьому такий показник емоційної складової поведінки щурів, як грумінг, змінювався на 198,5 % ($P < 0,05$).

Подані результати дії препарату ліпофлавіон з відновлення показників поведінкової реакції «перекликаються» з даними щодо впливу цього препарату на виживаність тварин і з показниками усунення неврологічного дефіциту, спричиненого ГПМК.

Висновки

Отримані результати свідчать про те, що в умовах сформованої експериментальної ішемії головного мозку при застосуванні препаратів кверцетину (водорозчинна форма — препарат корвітин і ліпосомальна форма — ліпофлавіон) і ліпіну спостерігається динаміка прояву їх церебропротекторної дії. Препарати мають одну спрямованість, але різний за силою ефект.

1. Модельоване ГПМК спричинює високий рівень летальності (70 % у групі), а у тварин, що вижили, спостерігається виражений неврологічний дефіцит; значно знижуються показ-

ники орієнтовно-дослідної активності.

2. Застосування антиоксидантів — ліпіну, корвітину та ліпофлавіону — зменшує відсоток летальності тварин із ГПМК та вірогідно знижує розвиток симптомів неврологічного дефіциту (на 45,6; 62 і 68,2 % відповідно).

3. Під впливом препаратів кверцетину та ліпіну відновлюються показники поведінкових реакцій.

4. За силою нейропротекторного впливу ліпофлавіон перевершує дію корвітину та ліпіну.

Таким чином, отримані результати свідчать про раціональність подальшого вивчення препаратів кверцетину з метою розширення меж їх застосування (особливо в неврологічній практиці).

ЛІТЕРАТУРА

1. *Clinicians manual on blood pressure and stroke prevention* / Chalmers J., MacMahon S., Anderson C. et al. — London, 1996.
2. Гусев Е. І. Ішемія головного мозку / Е. І. Гусев, В. І. Скворцова — М. : Медицина, 2001. — 328 с.
3. *Церебропротективні ефекти антиоксидантів при нейродеструктивних порушеннях, обумовлених токсичною дією кисневих радикалів* / Дунаев В. У., Губський Ю. І., Беленічев

І. Ф. та ін. // Сучасні проблеми токсикології. — 2004. — № 1. — С. 7-14.

4. Scott B. Oxidative stress, oxidants and antioxidants / B. Scott, O. Auroma // *Exp. Physiol.* — 1999. — Vol. 8, N 6. — P. 291-295.

5. *Медикаментозний захист головного мозку при моделюванні ішемії та реперфузії* / Клименко В. Н., Беленічев І. Ф., Башкин І. Н. та ін. // *Клін. хірургія.* — 1993. — № 12. — С. 50-52.

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

7. Калугев А. В. Стресс. Тревожность и поведение. Актуальные проблемы моделирования тревожного поведения у животных / А. В. Калугев. — К., 1998. — 95 с.

