

Н. О. Семененко, Г. І. Степанюк, А. І. Семененко

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ЛІКУВАЛЬНОЇ ДІЇ СПОЛУКИ DSK-38 ТА ЦИТИКОЛІНУ В УМОВАХ ХРОНІЧНОЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Вінницький національний медичний університет
імені М. І. Пирогова, Вінниця, Україна

УДК 615.21:599.323.4:616.831-005

Н. А. Семененко, Г. И. Степанюк, А. И. Семененко

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНОГО ДЕЙСТВИЯ СОЕДИНЕНИЯ DSK-38 И ЦИТИКОЛИНА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Вінниця, Україна

В работе изложено положительное влияние применения натриевой соли 4-(2-оксо-3-метил-2Н-[1,2,4]триазин[2,3-с]хиназолин-6-ил) бутановой кислоты (соединение DSK-38) на снижение неврологического и когнитивного дефицита при остром нарушении мозгового кровотока (ОНМК) у крыс (экспериментальную модель создавали путем перевязки обеих сонных артерий). Лечение проводили в течение 18 суток после моделирования ОНМК. Ежедневно вводили DSK-38 (10 мг/кг) и цитиколин (250 мг/кг) внутривентриально. Неврологический дефицит у животных определяли по шкале stroke-index С. Р. McGrow. Динамику ориентировочно-поисковой деятельности оценивали в опыте «открытое поле». Оценку способности животных к обучению и запоминанию аверсивного стимула исследовали в тесте условной реакции пассивного избегания. Лечебное действие исследуемых веществ проявилось уменьшением показателя летальности, а также процента животных с тяжелой симптоматикой, улучшением ориентировочно-исследовательской деятельности, увеличением процента обученных животных при проведении теста условной реакции пассивного избегания по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$). Причем по этим свойствам соединение DSK-38 не уступало цитиколину. Указанное положительное действие обоих лечебных средств на течение неврологического и когнитивного дефицита, вероятно, является одним из проявлений цитопротекторного эффекта.

Ключевые слова: острое нарушение мозгового кровообращения, натриевая соль 4-(2-оксо-3-метил-2Н-[1,2,4]триазин[2,3-с]хиназолин-6-ил) бутановой кислоты, цитиколин.

UDC 615.21:599.323.4:616.831-005

N. O. Semenenko, G. I. Stepanyuk, A. I. Semenenko

COMPARATIVE EVALUATION OF THERAPEUTIC EFFECT OF COMPOUND DSK-38 AND CITICOLINE UNDER CONDITIONS OF CHRONIC CEREBRAL ISCHEMIA

The Vinnitsya National Medical University named after M. I. Pirogov, Vinnitsya, Ukraine

Considering cerebroprotective properties of sodium salt 4-(2-oxo-3-methyl-2H-[1,2,4]triazine[2,3-c]quinazolin-6-yl) butanoic acid (compound DSK-38) detected in the previous researches it became interesting to investigate influence of this compound on the dynamics of the cognitive and mnestic functions of the neurological status of the rats with acute disorder of the cerebral circulation during a course introduction of the given compound into the rat's organism.

Experimental model of acute disorder of the cerebral circulation was created by means of ligation of both carotid arteries (CA). Treatment was conducted during 18 days after modeling of ADCC. Compound DSK-38 (10 mg/kg) and citicoline (250 mg/kg) were introduced every day intraperitoneally. Neurological deficiency was determined in the animals by stroke-index С. Р. McGrow. Dynamics of orienting-search activity was evaluated in the "open field" test. Evaluation of ability of the animals for studying and remembering of aversive stimulus was investigated in the test of conditioned response of passive avoidance.

Analysis of obtained data demonstrates that treatment course (18 days) of rats with acute disorder of the cerebral circulation with DSK-38 (10 mg/kg) and citicoline (250 mg/kg) results in decreasing of neurological and cognitive deficiency. This was manifested by decreasing of the lethality level and also percentage of animals with severe symptomatic, improvement of orienting-search activity, increasing of percentage of trained animals by conducting test of conditioned response of passive avoidance as compared with a control group ($p \leq 0,05$). The important fact that compound DSK-38 didn't yield to a reference preparation in these properties. The indicated positive influence of both treatment agents on the neurological and cognitive deficiency course is probably one of the manifestations of the cytoprotective effect. Previous investigations prove it.

Key words: acute disorder of the cerebral circulation, sodium salt 4-(2-oxo-3-methyl-2H-[1,2,4]triazine[2,3-c]quinazolin-6-yl) butanoic acid, citicoline.



Вступ

Відомо, що ішемічний варіант гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК) супроводжується тяжкими неврологічними розладами, такими як порушення когнітивних (пам'яті, здатності до навчання, аналізу та прийняття рішень), моторних, вербальних та інших функцій центральної нервової системи (ЦНС), та зниженням соціальної активності людей [1–4]. Лікування хворих із ГПМК є складним інтегрованим міждисциплінарним завданням, вирішення якого потребує залучення спеціалістів різного профілю та проведення комплексної інтенсивної терапії, дія якої, перш за все, спрямована на збереження життєздатності функціонально активних нейронів [5]. Згідно з сучасними уявленнями, лише ті лікарські засоби, які позитивно впливають на клітинний метаболізм, іонний гомеостаз, структуру та функції мембран, запобігають розвитку в них необоротних змін, оптимізують роботу мозку як у фізіологічних умовах, так і при патології, можуть бути зараховані до розряду церебропротекторів [6; 7].

Зважаючи на виявлені нами в попередніх дослідженнях [8] церебропротекторні властивості натрієвої солі 4-(2-оксо-3-метил-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) бутанової кислоти (сполуки DSK-38), цікаво дослідити вплив цієї речовини на динаміку когнітивно-мнестичних функцій неврологічного статусу щурів із ГПМК при курсовому лікувальному введенні в організм тварин даної речовини.

Мета дослідження — охарактеризувати вплив сполуки DSK-38 при курсовому лікувальному введенні на динаміку показників летальності, когнітивно-мнестичних функцій і неврологічного дефіциту щурів після ГПМК у хронічному експерименті.

Матеріали та методи дослідження

Експеримент проводили на 80 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 160–180 г, ГПМК моделювали шляхом перев'язування обох сонних артерій у ненаркотизованих тварин, лігатури під судини підводили в умовах пропофолового наркозу (60 мг/кг внутрішньоочеревинно (в/о)). Оклюзію викликали через 10 хв після виходу щурів із наркозу в стані легкої седатії. Через 1 год після відтворення патології починали в/о введення DSK-38 (10 мг/кг) та препарату порівняння — цитиколіну (250 мг/кг) за аналогічною схемою в лікувальному режимі — через 1 год після відтворення ГПМК і далі кожних 24 год 1 раз на добу упродовж 18 діб спостереження. Обидві речовини використовували в оптимальних церебропротекторних дозах [8; 9].

Неврологічний дефіцит у тварин визначали за шкалою stroke-index С. Р. McGrow [10]. Тяжкість стану визначали за сумою відповідних балів: до 3 балів — легкий ступінь, від 3 до 7 балів — середній ступінь і від 7 балів і вище — тяжкий ступінь. Відмічали парези, паралічі кінцівок, тремор, манежні рухи, птоз, положення на боці, рухливість як прояв неврологічного дефіциту досліджували шляхом утримання щурів на стрижні діаметром 15 см, що обертався (швидкість обертання 3 об/хв). Тварин тестували щоденно, виставляючи суму балів:

- односторонній напівптоз — 0,5 бала;
- односторонній птоз — 1 бал;
- тремор — 0,5 бала;
- манежні рухи — 0,5 бала;
- парези кінцівок (за кожну кінцівку) — 1 бал;
- параліч кінцівок (за кожну кінцівку) — 2 бали;
- бокове положення — 3 бали;

— нездатність утриматися на стрижні, що обертається (3 об/хв) протягом 4 хв — 3 бали.

Динаміку орієнтувально-пошукової діяльності оцінювали у досліді «відкрите поле» [11]. Оцінку здатності тварин до навчання та запам'ятовування аверсивного стимулу досліджували в тесті умовної реакції пасивного уникання (УРПУ) [12].

Цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента, зміни показників вважали вірогідними при $p \leq 0,05$ [13].

Результати дослідження та їх обговорення

Результати проведеного експерименту показали, що двостороннє перев'язування сонної артерії у щурів без лікування викликає тяжкі неврологічні зміни: паралічі, парези, птоз — із максимальним проявом на 4-ту добу. Так, у цей термін спостереження у групі нелікованих тварин середній бал за шкалою С. Р. McGrow становив 16,2 бала, що відповідає тяжкому ступеню неврологічної симптоматики [10], а показник летальності — 65 % (табл. 1).

На 18-ту добу дослідження встановлено, що в групі нелікованих тварин із ГПМК не спостерігалось повного відновлення втрачених функцій ЦНС. На це вказувала наявність у щурів даної групи значного неврологічного (6,9 бала) та когнітивного дефіциту, що проявилось пригніченням орієнтувально-дослідницької діяльності та зниженням латентного періоду УРПУ (див. табл. 1).

Курсове введення щурам із ГПМК у лікувальному режимі сполуки DSK-38 так само, як і цитиколіну, створювало виражений церебропротекторний ефект. Так, на 4-ту добу експерименту неврологічний дефіцит за шкалою С. Р. McGrow зменшився щодо контролю і становив відповідно $(12,90 \pm 0,41)$ та $(12,10 \pm 0,32)$ бала про-



Таблиця 1

**Вплив DSK-38 і цитиколіну
на виживання та розвиток неврологічного дефіциту
у тварин у різні терміни після ГПМК, $M \pm m$, $n=7-20$**

Група тварин	Кількість щурів із важкою симптоматикою, %		Середній бал за шкалою С. Р. McGrow		Кількість тварин, що вижили на 4-ту добу, %
	на 4-ту добу	на 18-ту добу	на 4-ту добу	на 18-ту добу	
Інтактні тварини	0	0	1,00± ±0,28	0	100
Тварини з ГПМК без лікування (контроль)	100	58	16,20± ±0,10	6,90± ±0,30	35
Тварини з ГПМК + цитиколін	100	20*	12,10± ±0,32*	3,70± ±0,58*	60*
Тварини з ГПМК + DSK-38	100	30*	12,90± ±0,41*	4,20± ±0,65*	55

Примітка. У табл. 1–3: * — $p \leq 0,05$ щодо контролю.

ти (16,20±0,10) бала у групі щурів без лікування ($p \leq 0,05$). Показник летальності на фоні терапії сполукою DSK-38 і цитиколіном вірогідно зменшився щодо контролю (65 %) і сягав 45 та 40 % відповідно. Тобто, за здатністю зменшувати неврологічний дефіцит і показник летальності на 4-ту добу дослідження сполука DSK-38 (10 мг/кг в/о) була зіставною з цитиколіном (250 мг/кг в/о) (див. табл. 1).

На 18-ту добу після моделювання ГПМК курсове введення сполуки DSK-38, як і референс-препарату, приблизно вдвічі зменшило відсоток щурів із тяжкою симптоматикою порівняно з контрольною

групою. Так, неврологічний дефіцит за шкалою С. Р. McGrow становив усього (4,20±0,65) та (3,70±0,58) бала проти (6,90±0,30) бала у групі нелікованих щурів відповідно ($p \leq 0,05$) (див. табл. 1).

Разом із цим лікувальна курсова терапія щурів із модельованим ГПМК сполукою DSK-38, подібно до цитиколіну, сприяла вірогідному підвищенню орієнтувально-дослідницької діяльності тварин у обидва терміни експерименту порівняно з контролем. Так, на 18-ту добу експерименту у щурів, що отримували сполуку DSK-38, кількість горизонтальних, вертикальних рухів і кількість заглядань у «нірки» віро-

гідно збільшилася щодо контролю і становила відповідно: 17,90±0,82; 11,00±0,37 та 12,30±0,40 ($p \leq 0,05$) (табл. 2). За показниками орієнтувально-дослідницької діяльності сполука DSK-38 дещо поступалася препарату порівняння.

Лікування тварин із ГПМК сполукою DSK-38 так само, як і цитиколіном, зменшувало явища когнітивного дефіциту наприкінці експерименту (18 діб). Так, латентний період УРПУ у щурів, що отримували сполуку DSK-38 та референс-препарат, вірогідно покращився і становив відповідно (10,00±0,31) та (11,00±0,49) с проти (17,10±0,74) с у контролі, а кількість повністю навчених тварин становила відповідно 71,4 та 85,7 % проти 42,8 % у контролі ($p \leq 0,05$) (табл. 3).

Таким чином, оцінюючи дані проведеного дослідження, можна зазначити, що лікувальна курсова (18-денна) терапія щурів із ГПМК сполукою DSK-38 (10 мг/кг в/о) так само, як і цитиколіном (250 мг/кг в/о), разом зі зниженням показника летальності сприяє зменшенню у тварин неврологічного та когнітивного дефіциту. Це проявилось зменшенням відсотка тварин із тяжкою симптоматикою, покращанням орієнтувально-дослідницької діяльності, збільшенням відсотка навчених тварин при проведенні тесту УРПУ порівняно з контрольною групою ($p \leq 0,05$). Причому за цими властивостями сполука DSK-38 практично зіставлялась із референс-

Таблиця 2

**Вплив DSK-38 і цитиколіну на орієнтувально-дослідницьку діяльність
тварин у різні терміни після ГПМК, $M \pm m$, $n=7-20$**

Група тварин	Кількість горизонтальних рухів (3 хв)		Кількість вертикальних рухів (3 хв)		Кількість зазирань у «нірки» (3 хв)	
	4-та доба	18-та доба	4-та доба	18-та доба	4-та доба	18-та доба
Інтактні тварини	24,10±0,68	31,70±0,40	11,60±0,35	12,70±0,35	22,20±0,54	24,40±0,41
Тварини з ГПМК без лікування (контроль)	2,10±0,34	8,40±0,37	1,40±0,20	3,70±0,36	0	1,80±0,26
Тварини з ГПМК + цитиколін	11,50±0,30*	22,7±0,7*	7,40±0,36	12,60±0,31*	4,75±0,30*	14,50±0,58*
Тварини з ГПМК + DSK-38	8,80±0,51*	17,90±0,82*	6,10±0,38*	11,00±0,37*	3,30±0,26*	12,30±0,40*



Таблиця 3

Вивчення відновлення когнітивно-мнестичних функцій у тварин з гострим порушенням мозкового кровообігу у тесті умовної реакції пасивного уникання на 18-ту добу експерименту, M±m, n=7

Група тварин	Латентний період заходу в темну камеру, с		Кількість навчених тварин, %
	до навчання	через 24 год після навчання	
Контроль	17,10±0,74	45,50±1,34	42,8
Цитиколін	11,00±0,49*	116,50±1,31*	85,7*
DSK-38	10,00±0,31*	90,20±1,21*	71,4*

препаратом. Зазначена позитивна дія обох лікувальних засобів на перебіг неврологічного та когнітивного дефіциту, ймовірно, є одним із проявів цитопротекторного ефекту, про що свідчать попередні дослідження.

Висновки

1. Курсове (18-денне) введення щурам із ГПМК DSK-38 (10 мг/кг в/о) так само, як і цитиколіну (250 мг/кг в/о), сприяє зниженню у тварин неврологічного та когнітивного дефіциту, а також зростанню кількості тварин, що виживали в даних умовах експерименту.

2. За спроможністю знижувати летальність і покращувати динаміку когнітивно-мнестичних функцій щурів із ГПМК сполука DSK-38 у дозі 10 мг/кг практично зіставлялась із цитиколіном (250 мг/кг).

ЛІТЕРАТУРА

1. Гусев Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. – М. : Медицина, 2001. – 328 с.
2. Кузнецова С. М. Влияние Тиоцетам на функциональное состояние ЦНС у больных, перенесших ишемический инсульт / С. М. Кузнецова, Ф. В. Юрченко // *Здоров'я України*. – 2006, червень. – № 11/12 (144/145). – С. 56–57.
3. Варакин Ю. Профилактика инсультов / Ю. Варакин // *Медицина неотложных состояний*. – 2007. – № 2 (9). – С. 98–103.
4. Kaplan P. Rehabilitation of Stroke / P. Kaplan, R. Caillet, C. Kaplan // *Butterworth of Heinemann*. – 2003. – P. 180.
5. Йолтуховский В. М. Организация помощи пациентам с острыми нарушениями мозгового кровообращения в Германии. Менеджмент в остром периоде инсульта: ключевые

элементы эффективности / В. М. Йолтуховский // *Практична ангиологія*. – 2008. – № 1/1. – С. 27–28.

6. Бурчинский С. Г. Современные подходы к нейропротекции / С. Г. Бурчинский // *Новости медицины и фармации*. – 2004. – № 5. – С. 6–7.

7. Мищенко Т. С. Когнитивные нарушения при старении / Т. С. Мищенко // *Здоров'я України*. – 2008. – № 7 (1). – С. 32.

8. Оцінка церебропротекторної дії похідних (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) карбонових кислот на моделі гострого порушення мозкового кровообігу у щурів / Г. І. Степанюк, Н. О. Семененко, С. І. Коваленко [та ін.] // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. – 2011. – № 6 (25). – С. 22–26.

9. Ходаківський О. А. Оцінка впливу експериментальної терапії адемолом на інтенсивність перебігу деструктивних змін в мембранах нейронів у монгольських піщанок в умовах гострої церебральної ішемії / О. А. Ходаківський // *Вісник морфології*. – 2011. – Т. 17, № 1. – С. 62–65.

10. 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.

11. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – М. : Высшая школа, 1991. – 527 с.

12. Головенко М. Я. Експериментальне вивчення ноотропної активності фармакологічних сполук : метод. рекомендації / М. Я. Головенко. – К. : ДФЦ МОЗ України, 2002. – 26 с.

13. Лапач С. Н. Статистика в науке и бизнесе : прак. рук. / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Моріон, 2002. – 640 с.

REFERENCES

1. Gusev E.I., Skvortsova V.I. Ishemia головного мозга [Cerebral ischemia]. Moscow, Medicine, 2001. 328 p.

2. Kuznetsova S.M., Yurchenko F.V. Tiocetam influence on the functional state of the central nervous system in patients with ischemic stroke. *Zdorov'ya Ukrainy* 2006; 11/12 (144/145): 56-57.

3. Varakin Y. Prevention of strokes. *Meditsina neotlozhnyih sostoyaniy* 2007; 2 (9): 98-103.

4. Kaplan P., Caillet R., Kaplan C. Rehabilitation of Stroke. *Butterworth of Heinemann* 2003; 180.

5. Yoltuhovskiy V.M. The organization of care for patients with acute disorders of cerebral circulation in Germany. Management in the acute period of stroke: the key elements of the efficiency. *Prakticheskaya angiologiya* 2008; 1/1: 27-28.

6. Burchinskiy S.G. Modern approaches to neuroprotection. *Novosti meditsiny i farmatsii* 2004; 5: 6-7.

7. Mischenko T.S. Cognitive impairment with aging. *Zdorov'ya Ukrainy* 2008; 7 (1): 32.

8. Stepanyuk G.I., Semenenko N.O., Kovalenko S.I., Skorina D.Y., Semenenko S.I. Assessment cerebroprotective actions of derivatives (3-R-2-oxo-2H-[1,2,4]tryathyno[2,3-c]hinasolin-6-il) carboxylic acids on the model of acute disorders of cerebral circulation in rats. *Farmakologiya ta li-karska toksikologiya* 2011; 6 (25): 22-26.

9. Khodakivskiy O.A. Estimation of the influence of experimental therapy with ademol on the intensity of destructive changes in the membranes of neurons in mongolian gerbils under conditions of acute cerebral ischemia. *Visnik morfologiyi* 2011; 17 (1): 62-65.

10. McGrow C.P. Experimental Cerebral Infarction Effects of Pentobarbital in Mongolian Gerbils. *Arch. Neurol* 1977; 34 (6): 334-336.

11. Buresh Ya., Bureshova O., Hyuston D. *Metodiki i osnovnyie eksperimentyi po izucheniyu mozga i povedeniya* [Methodology and main experiments on the study of brain and behavior]. Moscow, Vysshaya shkola, 1991. 527 p.

12. Golovenko M.Ya. *Eksperimentalne vivchennya nootropnoi aktivnosti farmakologichnih spoluk: metod. rekom* [Experimental study of nootropic activity pharmacological compounds: method. recom]. Kiev, DFTs MOZ Ukrainy, 2002. 26 p.

13. Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N. *Statistika v nauke i biznese: Prakticheskoe rukovodstvo* [Statistics in science and business: a Practical guide]. Kiev, Morion, 640 p.

Надійшла 12.12.2013

