



УДК 612.822.2:615.21:615.24

І. Ю. Борисюк¹, М. Я. Головенко², В. Б. Ларіонов², І. П. Валіводзь²

ОЦІНКА НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ МЕТАДОКСИНУ НА МОДЕЛІ ХЕМОІНДУКОВАНИХ СУДОМ, ВИКЛИКАНИХ КОРАЗОЛОМ, БІМЕГРИДОМ І СТРИХНІНОМ

¹ Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна,

² Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського, Одеса, Україна

УДК 612.822.2:615.21:615.24

І. Ю. Борисюк¹, Н. Я. Головенко², В. Б. Ларионов², І. П. Валиводзь²

ОЦЕНКА НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ МЕТАДОКСИНА НА МОДЕЛИ ХЕМОИНДУЦИРОВАННЫХ СУДОРОГ, ВЫЗВАННЫХ КОРАЗОЛОМ, БИМЕГРИДОМ И СТРИХНИНОМ

¹ Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина,

² Физико-химический институт им. А. В. Богатского, Одесса, Украина

Проведена оцінка нейропротекторного діяння метадоксину на моделі хемоіндуцированих судом, викликаних коразолом, бимегридом і стрихніном. Установлено, що метадоксин при тривалому введенні мишам (7 днів, 135 і 270 мг/кг інтрагастрально) статистически достовірно підвищує мінімальні дози хемоконвульсантів, взаємодіючих з ГАМК-барбітуратним рецепторним комплексом. Вплив тривалого введення метадоксину на судом, викликані стрихніном, відсутнє. С допомогою дисперсійного аналізу встановлено, що вплив на протисудорожний ефект метадоксину після його тривалого введення підвищується з 0,65 (при дозі 135 мг/кг) до 0,8 (270 мг/кг).

Ключевые слова: метадоксин, хемоконвульсант, коразол, стрихнин, бимегрид.

UDC 612.822.2:615.21:615.24

I. Yu. Borysiuk¹, M. Ya. Golovenko², V. B. Larionov², I. P. Valivodz²

EVALUATION OF METADOXINE NEUROPROTECTOR ACTIVITY ON MODELS OF CHEMICALLY INDUCED SEIZURES CAUSED BY PENTYLENETETRAZOLE, BIMEGRIDE AND STRICHRINE

¹ The Odesa National Medical University, Odesa, Ukraine,

² A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute, Odesa, Ukraine

Objective. Metadoxine is positioned as a drug with predominantly hepatoprotective action, but, taking into account its mechanism of action, it is also important to study it as a neuroprotective/neuroactive compound in order to expand the limits of its use in clinical practice.

Aim: evaluation of the neuroprotective effect of metadoxin in the model of chemically induced seizures caused by pentylenetetrazole, bemegride and strychnine.

Materials and methods of research. To evaluate the effect of metadoxine on the CNS inhibitory systems, a model of seizures caused by chemoconvulsants was chosen. The development of seizures during their intravenous infusion is concentration-dependent, and the use of various convulsive agents allows almost isolated monitoring of the participation of metadoxine in individual inhibitory processes.

Results. The anticonvulsant action of metadoxine varies considerably depending on which convulsive agent is used as a chemoconvulsant. Thus, when using convulsive agents that affect the functions of GABA-BD-barbiturate receptor complex (pentylenetetrazole and bemegrid), the anticonvulsant effect is quite significant and in some respects probably differs from the control values. The values of strychnine doses during its intravenous infusion after long-term administration of metadoxin do not experience statistically significant differences from the indicators of the control group of animals (in absolute terms, even a slight decrease is observed).

Conclusions. It was found that metadoxine with long-term administration to mice (7 days, 135 and 270 mg/kg intragastric) statistically significantly increases the minimum dose of chemoconvulsants that interact with GABA-barbiturate receptor complex. There is no effect of long-term administration of metadoxine on seizures caused by strychnine.

Key words: metadoxin, chemoconvulsant, pentylenetetrazole, strychnine, bemegride.



Вступ

Останнім часом у медичній практиці широко використовують метадоксин, який має унікальне поєднання гепатопротекторної та нейропротекторної дії, незалежних одна від одної. Його успішно застосовують для лікування медикаментозних і токсичних уражень печінки [1]. Піридоксин — похідне 3-оксипіридину, який має вітамінну активність (одна з трьох форм вітаміну B6), є попередником коферменту піридоксальфосфату, який прискорює катаболізм етанолу і запобігає інактивації АТФ ацетальдегідом — основним метаболітом етанолу [2]. Піридоксальфосфатзалежні ферменти відіграють роль у біосинтезі чотирьох нейротрансмітерів: серотоніну, адреналіну, норадреналіну і ГАМК. Завдяки високій спорідненості метадоксину до транспортера ГАМК, він є модулятором нейротрансмісії ГАМК і має властивості селективного агоніста серотонінових рецепторів підтипу 5-HT_{2B} [3].

Піридоксин має антиоксидантну дію, обмежуючи ПОЛ [4], регулює процеси азотистого обміну: трансамінування, дезамінування і декарбоксілювання амінокислот, а також відіграє важливу роль у метаболізмі триптофану, гістаміну, цистеїну, метіоніну. Здатність метадоксину посилювати вивільнення ГАМК і ацетилхоліну зумовлює його виражений анксиолітичний ефект, що підтверджено результатами конфлікт-тесту у щурів [5]. Алкоголь посилює дію ГАМК на ГАМК_A-рецептори (ГАМК_A-R), зумовлюючи зниження загальної збудливості мозку. Хронічний вплив алкоголю призводить до зниження відповіді ГАМК_A-R на дію ГАМК, що підвищує рівень толерантності до алкоголю [2].

Отже, усі ці дані свідчать про можливий вплив метадоксину на центральну нервову систему, тому не виключена можливість наявності у препараті й інших нейропротекторних активностей, зокрема протисудомної. Цей факт може бути важливим у зв'язку з тим, що при припиненні дії алкоголю потік хлоридів у клітину зменшується, що сприяє виникненню тремору, тахікардії, тривоги і навіть судом.

Мета дослідження — оцінка нейропротекторної дії метадоксину на моделі хемоіндукованих судом, викликаних коразолом, бімегридом і стрихніном.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проводилися на білих безпородних мишах обох статей, яких утримували згідно з міжнародними та національними біоетичними рекомендаціями (Директива Європейського Союзу 2010/10/63 ЕУ про дотримання законів, постанов і адміністративних положень держав ЄС із питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети) на стандартній лабораторній дієті при природному світловому циклі з вільним доступом до води та їжі.

Досліджувану сполуку вводили інтрагастрально за допомогою зонда у вигляді водного розчину. Тварини контрольної групи отримували відповідні об'єми дистильованої води. Виходячи з мети, піддослідні тварини, відповідно до схеми експерименту, були розділені на групи: 1-ша група — контрольна (18 тварин, інтактні); 2-га група — тварини, яким перорально вводили 135 мг/кг метадоксину протягом 7 діб, до введення судомного агента

(18 тварин); 3-тя група — тварини, яким перорально вводили 270 мг/кг метадоксину протягом 7 діб, до введення судомного агента (18 тварин). Судомні агенти вводили внутрішньовенно (у хвостову вену) у вигляді розчинів — 0,5 % коразолу, 0,3 % бімегриду, 0,1 % стрихніну на забуференому (після додавання судомних агентів) розчині ізотонічного хлориду натрію.

Внутрішньовенна інфузія судомних агентів ГАМК_A-R на тлі введення метадоксину — перспективний напрям у нейрофізіології, тому що ці процеси є швидко оборотними й ефекти реєструються у формі мінімальних ефективних доз речовини, що вводиться. До переваг даного методу дослідження можна зарахувати таке:

1. Можливість надання даних як в альтернативній, так і у градуйованій формі.

2. Можливість співвідношення даних з невеликими проміжками часу (± 1 хв).

3. Незалежність величин мінімальних ефективних доз від швидкості введення судомного агента [6].

При внутрішньовенній інфузії визначали об'єми розчину та розраховували дози кожного судомного агента, що викликають клоніко-тонічні судоми (ДКТС) та тонічну екстензію (ДТЕ). Дані представлені у вигляді «середнє \pm стандартне відхилення», вірогідність різниці оцінювалася за критерієм Стьюдента після попередньої перевірки даних на відповідність до нормального закону розподілу. Вірогідність результатів дисперсійного аналізу оцінювалася за F-критерієм.

Результати дослідження та їх обговорення

Схема дослідження, зважаючи на пов'язаний з метаболіч-



Зміна доз судомних агентів, що при внутрішньовенній інфузії викликають клоніко-тонічні та тонічні судоми у мишей на тлі попереднього введення метадоксину (7 діб, 135 та 270 мг/кг)

Показник	ДКТС	ДТЕ
БімеGRID		
Контроль	100,0±4,9	100,0±13,7
135 мг/кг	185,5±12,3**	161,9±27,3
270 мг/кг	181,8±13,0**	180,3±30,4*
Коразол		
Контроль	100,0±4,7	100,0±11,1
135 мг/кг	109,5±10,7	184,2±23,8*
270 мг/кг	111,2±10,3	174,6±45,5
Стрихнін		
Контроль	100,0±11,9	100,0±10,1
135 мг/кг	95,8±14,3	102,6±11,1
270 мг/кг	89,7±13,9	91,4±12,7

Примітка. * — вірогідна різниця у порівнянні з контролем при $p \leq 0,05$; ** — вірогідна різниця у порівнянні з контролем при $p \leq 0,01$.

ними процесами характер очікуваної дії метадоксину, складалася з тривалого (7 діб, щодобово) введення мишам досліджуваної сполуки у терапевтичних дозах з їхнім алометричним перерахунком (135 та 270 мг/кг). Як показник біологічного ефекту використовували дози судомних агентів (стрихнін, коразол, бімеGRID), що викликають клоніко-тонічні судоми та тонічну екстензію при їхній внутрішньовенній інфузії. Вибір судомних агентів було обґрунтовано їхньою селективною блокадою окремих рецепторних систем: стрихнін є класичним блокатором гліцинових рецепторів, бімеGRID — антагоніст барбітуратного сайту ГАМК_A-Р, а коразол — непрямий антагоніст зазначеного рецептора завдяки наявності місць зв'язування у хлорному іонофорному каналі. Тому на підставі швидкооборотних фармакологічних ефектів можлива диференціація окремих ділянок ГАМК_A-Р, можливого фізіологічного впливу метадоксину.

Величина протисудомної дії метадоксину значно різниться залежно від того, який судомний агент використовується як хемоконвульсант (табл. 1). Так, при застосуванні коразолу та бімеGRIDу протисудомний ефект є досить значним і за окремими показниками (ДКТС або ДТЕ) вірогідно відрізняється від контрольних значень. Слід зазначити, що найбільший за величиною та статистично значущий ($p < 0,03-0,04$) ефект реєструється для клоніко-тонічних компонентів судомного нападу, викликаного бімеGRIDом. Розвиток міоклонічних судом є мірою підвищення судомного порога головного мозку та зменшення ефективності гальмівних процесів щодо спонтанних збуджуваль-

них потенціалів. На відміну від них, тонічний компонент судом зумовлений не тільки зниженням порога чутливості, а й обмеженою генералізацією збудження внаслідок блокування гальмівних процесів хемоконвульсантами. Оскільки барбітуратний сайт здійснює лише модуляцію афінитету ГАМК-рецептора до ГАМК, високі показники протисудомного ефекту за обома показниками, що не зазнають суттєвої різниці залежно від введеної дози метадоксину, свідчать про можливе підвищення рівня ГАМК у синаптичному просторі (за рахунок її утворення з піроглутамату), яке здатне викликати гіперполяризацію нейронів без додаткової модуляції рецепторного комплексу. Піроглутамінова кислота в процесі гідролізу утворює глутамінову кислоту, яка є субстратом глутаматдекарбоксилази — ключового ензиму у процесі біосинтезу ГАМК [7–9].

Навпаки, коразол є непрямим антагоністом ГАМК, що сприяє, імовірно, підвищенню

частоти відкривання хлорного каналу після активації комплексу вільною ГАМК і призводить до часткового блокування потоку іонів хлору та розвитку гальмівних процесів на початкових етапах розвитку пароксизмальної активності. Саме тому протисудомний ефект тривалого введення метадоксину не зазнає вірогідної різниці з контролем за показниками ДКТС. Навпаки, розповсюдження збудження на стадії тонічних судом гальмується більш ефективно завдяки високій концентрації ГАМК, унаслідок чого й спостерігається вірогідний протисудомний ефект за тонічними компонентами судомного нападу (див. табл. 1).

Також в ініціації та регуляції розповсюдження процесів збудження значну роль відіграє гліцинова система, антагоністом якої є стрихнін. Утім, величини доз стрихніну при його внутрішньовенній інфузії після тривалого введення метадоксину не зазнають статистично значущих відмінностей від показників контрольної гру-



пи тварин (за абсолютною величиною навіть спостерігається їхнє незначне зменшення, див. табл. 1). Зважаючи на те, що переважна більшість стрихнін-чутливих гліцинових рецепторів локалізуються у спинному мозку та регулюють надходження афферентних імпульсів до ЦНС, можна припустити не тільки високий ступінь контролю цієї системою збуджувальних сигналів, а й те, що підвищення концентрації медіатора ГАМК-ергічної системи не є достатнім для блокування цих стимулів. З другого боку, навіть за припущення про функціонування полімедіаторних синаптичних систем (зокрема, ГАМК-гліцин), слід визнати провідний характер гліцинових механізмів контролю гальмування збудження.

Загалом при використанні хемоконвульсантів, дія яких локалізується у межах ГАМК-рецепторного комплексу, підвищення їхніх мінімальних доз, що викликають окремі компоненти судомного нападу, є статистично вірогідним та підтверджує вплив метадоксили на ГАМК-ергічні процеси. У випадку стрихніну, що переважно блокує гліцинові рецептори, цей ефект не спостерігається. Більш того, протисудомний ефект метадоксили, можливо, є комплексним і реалізується як через підвищення доступності субстрату глутаматдекарбоксилази (глутамінова кислота), так і через збільшення її активності (за рахунок підвищення кількості коферменту — піридоксину).

Іншим є питання про дозозалежність фармакологічних ефектів метадоксили, важливого з точки зору раціоналізації фармакотерапії. Оскільки компоненти метадоксили здебільшого впливають на метаболічні процеси (піридоксин,

що виступає як кофермент, і піроглутамінова кислота, яка сама не володіє фармакологічною активністю), слід очікувати, що фізіологічні ефекти цього препарату є «складними», метаболічними, на відміну від простих концентраційно залежних ефектів. Унаслідок цього неможливо прямо оцінити зв'язок між введеною дозою метадоксили на поповнення та депонування ГАМК. Тому для оцінки цього впливу було використано однофакторний дисперсійний аналіз для визначення величини впливу на фармакологічні показники введення різних доз метадоксили (табл. 2).

При дозі 135 мг/кг вплив попереднього тривалого введення метадоксили оцінюється на рівні 0,65, тимчасом як вплив неврахованих факторів становить 0,35. До них можуть бути зараховані індивідуальні особливості тварин, що впливають на ступінь усмоктування препарату, інтенсивність його включення до метаболічних процесів, пластичність нейрофізіологічних функцій тощо. Рівень вірогідності для цього показника, що характеризує нелінійну кореляцію між дозою та зміною протисудомного ефекту, становить $p \leq 0,07$, що незначно перевищує загальноприйнятий рівень вірогідності для більшості фармакологічних досліджень (0,05). Навпаки, при тривалому введенні метадоксили

дозою 270 мг/кг внесок факторіальної дисперсії значно підвищується (0,8), що вказує на збільшення впливу цього фактора на ефект, який реєструється. Відповідно величина неврахованих факторів при введенні цієї дози метадоксили зменшується до 0,2, отже, існує вагома, хоча й непропорційна залежність між введеною дозою сполуки та її протисудомною дією по відношенню до застосованих хемоконвульсантів.

Висновки

1. Метадоксин при тривалому введенні мишам (7 діб, 135 та 270 мг/кг інтрагастрально) статистично вірогідно ($p \leq 0,05$) підвищує мінімальні дози хемоконвульсантів, що взаємодіють з ГАМК-барбітуратним рецепторним комплексом. Вплив тривалого введення метадоксили на судоми, що викликані стрихніном (блокатор гліцинових рецепторів) відсутній.

2. Метаболічний характер дії метадоксили не дозволяє прямо оцінити залежність «доза-ефект», проте за допомогою дисперсійного аналізу встановлено, що вплив на протисудомний ефект метадоксили після його тривалого введення підвищується з 0,65 (при дозі 135 мг/кг) до 0,8 (270 мг/кг).

Ключові слова: метадоксин, хемоконвульсант, коразол, стрихнін, бімегрид.

Таблиця 2

Оцінка внеску факторіальної та випадкової дисперсії (фактор впливу — доза метадоксили) у загальну результативну ознаку (протисудомний ефект) тривалого введення метадоксили у різних дозах

Показник	Доза метадоксили	
	135 мг/кг	270 мг/кг
Внесок факторіальної дисперсії	0,65	0,8
Внесок випадкової дисперсії	0,35	0,2
Рівень вірогідності, p (за F-критерієм)	0,07	0,024



ЛІТЕРАТУРА

1. Гепатозахисна дія метадокси-ну при експериментальному алко-гольному гепатиті щурів / Г. М. Ша-яхметова, О. В. Карпова, А. К. Во-роніна, М. Я. Головенко. *Медицина та клінічна хімія*. 2015. Т. 17, № 4. С. 54–58.

2. Addolorato, Giovanni & Anco-на, Carlo & Capristo, E & Gasbarrini, Gabriele. (2003). Metadoxine in the Treatment of Acute and Chronic Al-coholism: A Review. *International journal of immunopathology and pharmaco-logy*. № 16. P. 207–214. 10.1177/039463200301600304.

3. Antonio Molina-Carballo, Ana Checa-Ros & Antonio Mucos-Hoyos (2016): Treatments and compositions for attention deficit hyperactivity disorder: a patent review, Expert Opinion on Therapeutic Patents, DOI: 10.1080/13543776.2016.1182989

4. Piulats E. Pyridoxine as a protec-tor against oxidative stress. *European Journal of Biochemistry*. 2001. Vol. 268, S1. P. 139–143.

5. Pyrrolidone-carboxylic acid in acute and chronic alcoholism. Preclinical and clinical studies / D. E. Pel-legrini-Giampietro, F. Moroni, A. Pistelli et al. *Recenti Progressi in Medicina*. 1989. Vol. 80, № 3. P. 160–164.

6. Зиньковский В. Г., Жук О. В., Головенко Н. Я. Эффекторный ана-лиз принципов функционирования и кооперативности субъединиц ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамб-ля. *Механизмы действия анксиולי-тических, снотворных и противо-*

судорожных средств. Киев: Наукова думка, 1988. С. 98–175.

7. Головенко М. Я., Карпова О. В., Борисюк І. Ю. Регулювання метадоксином елімінації етанолу та його метаболітів з організму щурів. *Клінічна фармація*. 2016. Т. 20, № 3. С. 24–28.

8. Dakshinamurti S., Dakshina-murti K. Antihypertensive and neuro-protective actions of pyridoxine and its derivatives. *Can J Physiol Pharmacol*. 2015. Vol. 93 (12). P. 1083–1090.

9. Di Miceli M., Gronier B. Pharma-cology, systematic review and recent clinical trials of metadoxin. *Rev Recent Clin. Trials*. 2018. Vol. 13 (2). P. 114–125.

REFERENCES

1. Shayakhmetova G.M., Karpova O.V., Voronina A.K., Golovenko M.Ya. Hepatoprotective effect of metadoxin in experimental alcoholic hepatitis of rats *Medical and clinical chemistry* 2015; 17, 4: 54-58.

2. Addolorato, Giovanni & Ancona, Carlo & Capristo, E & Gasbarrini, Gabriele. (2003). Metadoxine in the Treatment of Acute and Chronic Al-coholism: A Review. *International journal of immunopathology and pharmacology* 16. 207-14. 10.1177/039463200301600304.

3. Antonio Molina-Carballo, Ana Checa-Ros & Antonio Mucos-Hoyos (2016): Treatments and compositions for attention deficit hyperactivity disorder: a patent review, Expert Opinion on Therapeutic Patents, DOI: 10.1080/13543776.2016.1182989

4. Piulats E. Pyridoxine as a protec-tor against oxidative stress. *European Journal of Biochemistry* 2001; 268, S1: 139-143.

5. Pellegrini-Giampietro D.E., Mo-roni F., Pistelli A., Palmerani B., Zorn A.M., Paruzzi S., Caramelli L., Botti P., Valenza T., Antonini M. Pyrrolidone-carboxylic acid in acute and chronic al-coholism. Preclinical and clinical stud-ies. *Recenti Progressi in Medicina* 1989; 80, 3: 160-164.

6. Zin'kovsky V.G., Zhuk O.V., Golovenko N.Ja. Effekturnyy analiz printsipov funktsionirovaniya i kooperativnosti subedinic GAMK-BD-receptor-no-ionoformogo ansamblya. *Mekhanizmy deystviya anksioliticheskikh, snotvornyykh i protivosudorozhnykh sredstv*. Kiev: Naukova dumka, 1988. S. 98-175.

7. Golovenko M.Ya., Karpova O.V., Borisjuk I.Yu. Regulation of metha-done elimination of ethanol and its me-tabolites from rats organism. *Clinichna farmatsiya* 2016; 20, 3: 24-28.

8. Dakshinamurti S., Dakshinamur-ti K. Antihypertensive and neuroprotec-tive actions of pyridoxine and its deriv-atives. *Can J Physiol Pharmacol* 2015, 93 (12): 1083-1090.

9. Di Miceli M., Gronier B. Phar-macology, systematic review and re-cent clinical trials of metadoxin. *Rev Recent Clin. Trials* 2018; 13 (2): 114-125.

Надійшла до редакції 20.10.2019

Рецензент д-р мед. наук,
проф. Р. С. Вастьянов,
дата рецензії 29.10.2019

УДК 616-06:616-092.9

І. І. Грицан, Я. В. Сірман, Н. І. Прейс, І. В. Савицький

ДИСБАЛАНС СИСТЕМ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТА ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ПРИ МІКРОАНГІОПАТІЯХ НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ І ПЕРСПЕКТИВИ ЇХНЬОЇ КОРЕКЦІЇ

Український НДІ медицини транспорту МОЗ України, Одеса, Україна

УДК 616-06:616-092.9

И. И. Грицан, Я. В. Сирман, Н. И. Прейс, И. В. Савицкий
НАРУШЕНИЕ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ МИКРОАНГИОПАТИЯХ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ КОРРЕКЦИИ

Украинский НИИ медицины транспорта МЗ Украины, Одесса, Украина

В статье приведены результаты исследования влияния комбинированной терапии на состояние систем АОС и ПОЛ, в частности изучена целесообразность применения флавицина, диосмина и кверцетина в комплексе с L-аргинином для лечения микроангиопатий на фоне СД 2 типа.

© І. І. Грицан, Я. В. Сірман, Н. І. Прейс, І. В. Савицький, 2019

