

І.В. Полевик

ОЦІНКА ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЦИТОХРОМУ С ЗА УМОВИ ГІПОКСІЇ, ЩО ВИНΙΚАЄ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ КОСМІЧНОЇ ХВОРОБИ РУХУ

*Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського
кафедра фармакології
(зав. - д.м.н., проф. І.Д. Сапегін)*

Ключові слова: *хвороба руху,
моделювання цереброваскулярних
розладів, цитохром С,
церебропротективний ефект*

Key words: *motion sickness,
modelling of cerebrovascular
disturbances, cytochrome C,
cerebroprotective effect*

Резюме. *В хронических экспериментах на кроликах с имплантированными в кору мозга, таламус и гипоталамус микроэлектродами при помощи регистрации локального кровотока, реакций мозговых сосудов, напряжения кислорода и водно-электролитного состояния мозговой ткани показано, что при укачивании животных, находившихся в антиортостатическом положении (УАОП – метод неинвазивного моделирования преходящих цереброваскулярных расстройств), предварительное введение цитохрома С в дозе 0,3 мг/кг оказывает церебропротективный эффект, предотвращая или уменьшая патологические сдвиги названных показателей, развивающиеся при двухчасовом УАОП без применения препарата.*

Summary. *Chronic experiments were performed on conscious rabbits with microelectrodes implanted into the brain cortex, thalamus and hypothalamus. Registration of local blood flow, reactions of cerebral vessels, oxygen tension and water-base status of the brain tissues revealed that preventive intravenous introduction of cytochrome C in dose of 0,3 mg/kg before rocking of an animal in headdown tilting (the method of noninvasive modelling of transient cerebrovascular disturbances) exerted the cerebroprotective effect, which prevents or decreases negative changes of examined indices, developed while rocking in headdown tilting during 2 hours without usage of the drug.*

Гіпоксія - універсальний патологічний процес, що виникає при невідповідності енергопотребности клітини до енергопродукції в системі мітохондріального окиснювального фосфорилування, який супроводжує і визначає розвиток найрізноманітнішої патології [13]. Однією з таких патологій є гіпоксія, що виникає при космічній формі хвороби руху (КХР), модель якої розроблена в нашій лабораторії [1].

Тому пошук речовин, що вирішують цю проблему з погляду антигіпоксичної дії, поза сумнівом, є актуальним. Перш за все, це повинні бути речовини, здатні здійснювати акцептацію і транспорт електронів від відновлених коферментів, що блокують перебіг реакцій, які дають енергію в клітині, до різних ендогенних акцепторів з обов'язковим збереженням у тій чи іншій мірі фосфорилування [7].

За літературними даними, суттєвий антигіпоксичний вплив чинить цитохром С (цитомак) - метаболічний засіб, який здійснює перенесення електронів на одному з останніх етапів дихального ланцюга, тим самим активізує його, знижу-

ючи вираженість гіпоксії, через що стимулює процеси регенерації та надає трофічну дію. Позитивний результат був досягнутий при застосуванні цитохрому С в дозі 50-100 мг активної речовини на разове внутрішньовенне введення при отруєнні окислом вуглецю [10].

Цитохром С, доданий до кардіоплегічного розчину в дозі 0,5 мг/кг, виявився ефективним кардіопротектором у хірургії "відкритого серця". Протягом вже значного часу йде впровадження в клінічну практику застосування цитохрому С в комбінації з персульфатом натрію (ПСН). Механізм дії цієї речовини полягає в безпосередній участі у тканинному диханні, завдяки посиленню транспорту електронів у порушеному дихальному ланцюзі, що пояснює адитивний ефект ПСН до антигіпоксичної дії цитохрому С [7].

Мета нашої роботи - дослідження протекторної дії цитохрому С на кровопостачання, кисневий і водно-електролітний баланс головного мозку кроликів при моделюванні гіпоксичних розладів, що виникають при КХР.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проведені в хронічних експериментах на кроликах. Догляд і утримання лабораторних тварин здійснювали відповідно до вимог [6, 9] у стандартних умовах віварію при вільному доступі до води та їжі. Цереброваскулярні розлади моделювали шляхом 2-годинного захитування тварини, що знаходиться в антиорто-статичному положенні (ЗАОП) з кутом нахилу осі тіла до горизонтальної площини - 45° . Захитування проводили на створеному в нашій лабораторії автоматизованому пристрої [12], який забезпечує стандартизацію параметрів дії: частота коливань - 30 за 1 хв, кут відхилення щодо вертикальної осі - 15° , амплітуда - 80-100 см. Локальний кровотік (ЛК) у головному мозку вимірювали методом реєстрації кліренсу водню [5]. Реактивність мозкових судин (КРСО₂) визначали за ступенем приросту ЛК у відповідь на дозовану інгаляцію СО₂ [8].

Напругу кисню (РО₂) реєстрували за полярографічним методом. Стан водно-електролітного балансу мозкової тканини оцінювали за динамікою позаклітинного (R₁) та внутрішньоклітинного (R₂) електричного опору, які обчислювали шляхом реєстрації імпедансу мозкової тканини при трьох різних частотах електричного струму з подальшою математичною обробкою [3, 4]. Всі показники реєстрували за допомогою платинових мікроелектродів [11], які за 3-4 тижні до експериментів імплантували тваринам у структури кори великих півкуль, таламуса та гіпоталамуса за стереотаксичною методикою [14]. Показники реєстрували до дії (початковий рівень), а також через 30, 60, 90 і 120 хв. після початку дії ЗАОП. Динаміку показників обчислювали у відносних одиницях у порівнянні з вихідною величиною (початковий рівень), яку приймали за 100%. Про достовірність змін судили після статистичної обробки результатів із визначенням критерію Стьюдента. Цитохром С вводили внутрішньовенно в дозі 0,3 мг/кг перед дією ЗАОП. Церебропротекторним ефектом препарату вважали наявність достовірного зменшення зрушень вивчених показників від вихідного рівня, що спостерігалось при дії ЗАОП на тлі

попереднього введення цитохрому С по відношенню до змін при дії тільки ЗАОП (у таблицях позначається *).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

ЗАОП є адекватною методикою моделювання цереброваскулярних розладів, що виникають під час космічної хвороби руху; з іншого боку, це нескладний та, що дуже важливо, неінвазивний спосіб викликати у піддослідній тварини транзиторні порушення мозкового кровообігу. Воно спричиняє збільшення притоку крові до мозку та утруднення венозного відтоку з мозку, що супроводжується підвищенням гідродинамічного внутрішньосудинного тиску, надлишковою гідратацією мозкової тканини, що призводить до напруги регуляторних механізмів і викликає порушення реактивності та функціональної стійкості системи мозкового кровообігу і, в результаті, розвиток гіпоксії мозку [2].

Наші дослідження показали, що дія ЗАОП спричиняє розвиток як позаклітинного, так і внутрішньоклітинного набряку (оскільки при розвитку набряку спостерігається ізоосмотична гіпергідратація тканини, зменшення R₁ та R₂ свідчить про розвиток набряку, а збільшення - про дегідратацію у міжклітинному та внутрішньоклітинному просторі) як у корі, так і в таламусі та гіпоталамусі, починаючи з 30-60-ї хвилини та до кінця експерименту. Попереднє введення цитохрому С призвело до достовірного зменшення розвитку позаклітинної гіпергідратації і запобігання розвитку внутрішньоклітинної гіпергідратації в корі мозку, а також повного запобігання порушенням водно-електролітного стану в підкіркових структурах на 120-й хвилині експерименту (табл. 1, 2).

Аналіз динаміки локального кровотоку при ЗАОП показав максимальні зміни на другій годині експерименту (табл. 3). Так, у корі відбувалося зниження цього показника на 21,2% (p<0,01), у таламусі - на 18,6% (p<0,01), у гіпоталамусі - на 12,8% (p<0,01). При введенні цитохрому С кроликам до моделювання ЗАОП ішемічні явища в корі та таламусі достовірно зменшилися, а у гіпоталамусі цей показник не відрізняється від групи ЗАОП без препарату.

**Динаміка R_1 в % до вихідної величини при ЗАОП (1)
та при ЗАОП на фоні дії цитохрому-С (2)**

Структура мозку	Кількість спостережень	Показник стат. обробки	Час дії ЗАОП							
			30 хв.		60 хв.		90 хв.		120 хв.	
			1	2	1	2	1	2	1	2
Кора	12	M	-51,2	-12,6	-47,8	-8,6	-56,2	-10,6	-55,3	-13,3
		m	18,00	3,83	17,60	4,85	20,50	5,27	20,50	5,39
		p	<0,05	<0,01	<0,05	>0,25	<0,05	>0,1	<0,05	<0,05
Таламус	12	M	-34,1	-8,3	-45,0	-6,2	-49,3	-10,2	-52,0	-5,8
		m	15,80	5,93	17,30	4,1	18,20	6,76	19,00	4,95
		p	>0,05	>0,25	<0,05	>0,25	<0,05	>0,25	<0,05	>0,5
Гіпоталамус	12	M	-45,0	3,9	-53,5	4,7	-58,5	-6,9	-65,4	-1,5
		m	17,80	9,3	20,20	9,34	21,80	4,53	23,40	2,38
		p	<0,05	>0,5	<0,05	>0,5	<0,05	>0,25	<0,05	>0,5

Реактивність мозкових судин (за показником $KPCO_2$) зазнає менш значних змін при ЗАОП, ніж інші вивчені показники, а саме: спостерігається незначне, але достовірне її зниження у всіх структурах (табл. 4) – у корі на 3,6%, у таламусі на 5,4%, у гіпоталамусі на 6,8%. Профі-

лактичне введення цитохрому С призвело до запобігання зниженню цереброваскулярної реактивності в корі та таламусі та навіть до незначного, але достовірного зростання показника на 120 хвилині дії ЗАОП.

**Динаміка R_2 у % до вихідної величини при ЗАОП (1)
та при ЗАОП на фоні дії цитохрому-С (2)**

Структура мозку	Кількість спостережень	Показник стат. обробки	Час дії ЗАОП							
			30 хв.		60 хв.		90 хв.		120 хв.	
			1	2	1	2	1	2	1	2
Кора	12	M	-37,8	-3,7	-29,9	-6,1	-40,8	-6,7	-30,8	-7,9
		m	15,9	7,9	12,7	3,98	15,9	4,4	12,7	4,93
		p	<0,05	>0,5	<0,05	>0,25	<0,05	>0,25	<0,05	>0,25
Таламус	12	M	-56,8	-0,2	-60,5	4,7	-61	-6	-63,3	-8,6
		m	21,6	3,79	23	4,13	22,6	4,1	23,4	6,21
		p	<0,05	>0,5	<0,05	>0,5	<0,05	>0,25	<0,05	>0,25
Гіпоталамус	12	M	-32,3	-5,1	-61,6	-0,4	-62,8	-3,5	-64,6	-1,1
		m	15,8	3,82	23,4	3,65	23,5	3,37	24,2	5,83
		p	>0,05	>0,25	<0,05	>0,5	<0,05	>0,5	<0,05	>0,5

**Динаміка ЛК у % до вихідної величини при ЗАОП (1)
та при ЗАОП на фоні дії цитохрому-С (2)**

Структура мозку	Кількість спостережень	Показник стат. обробки	Час дії ЗАОП							
			30 хв.		60 хв.		90 хв.		120 хв.	
			1	2	1	2	1	2	1	2
Кора	12	M	6,3	-7,0	4,9	-12,8	-14,4	-13,7	-21,2	-15,0
		m	9,0	0,7	8,7	0,73	1,38	0,39	1,18	0,78
		p	>0,5	<0,01	>0,5	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Таламус	12	M	2,4	-4,1	0,9	-6,9	-12,85	-10,6	-18,6	-11,9
		m	10,3	0,47	7,7	0,87	1,34	0,8	1,54	0,71
		p	>0,5	<0,01	>0,5	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Гіпоталамус	12	M	8,0	-5,8	6,4	-9,3	-8,9	-9,7	-12,8	-13,1
		m	4,0	0,46	10,1	0,56	1,64	0,71	2,06	0,85
		p	>0,05	<0,01	>0,5	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

Дані, наведені в таблиці 5, показують, що ЗАОП викликає розвиток гіпоксичних явищ (за показником PO₂) в усіх зазначених структурах мозку, починаючи з 60-ї хвилини, з подальшим посиленням до кінця експерименту (зменшення полярографічного току по відношенню до вихідного рівня свідчить про зниження вмісту O₂ у мозковій тканині, а підвищення полярографіч-

ного току вказує на збільшення вмісту O₂ та зменшення гіпоксії тканини). Ступінь гіпоксії при ЗАОП на тлі дії цитохрому С суттєво і достовірно знижується як у корі, так і в таламусі та в гіпоталамусі, в порівнянні з результатами контрольних дослідів, найістотніше до кінця дії ЗАОП (120 хв.).

**Динаміка КРСО₂ у % до вихідної величини при ЗАОП (1)
та при ЗАОП на фоні дії цитохрому-С (2)**

Структура мозку	Кількість спостережень	Показник стат. обробки	Час дії ЗАОП							
			30 хв.		60 хв.		90 хв.		120 хв.	
			1	2	1	2	1	2	1	2
Кора	12	M	-12,0	-4,0	-21,0	-3,0	-4,9	-2,3	-3,6	0,4
		m	7,2	0,56	19,5	0,72	0,97	0,75	0,92	0,52
		p	>0,5	<0,01	>0,25	<0,01	<0,01	<0,05	<0,01	>0,5
Таламус	12	M	4,0	-2,5	8,0	-0,9	-4,5	-0,5	-5,4	-1,7
		m	18,0	0,52	16,0	0,46	0,86	0,82	1,15	0,56
		p	>0,5	<0,01	>0,5	>0,1	<0,01	>0,5	<0,01	<0,05
Гіпоталамус	12	M	-3,8	-2,9	-6,0	-1,8	-5,0	-2,4	-6,8	2,1
		m	10,6	0,61	9,0	0,72	1,01	0,74	0,61	0,75
		p	>0,5	<0,01	>0,5	<0,05	<0,01	<0,01	<0,01	<0,05

**Динаміка PO₂ у % до вихідної величини при ЗАОП (1)
та при ЗАОП на фоні дії цитохрому-С (2)**

Структура мозку	Кількість спостережень	Показник стат. обробки	Час дії ЗАОП							
			30 хв.		60 хв.		90 хв.		120 хв.	
			1	2	1	2	1	2	1	2
Кора	12	M	-9,6	-3,68	-17,3	-3,32	-22,1	-7,13	-30,2	-7,39
		m	4,38	0,5	3,60	0,84	4,1	0,61	3,47	0,84
		p	>0,05	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Таламус	12	M	-8,5	-3,26	-16,0	-4,21	-24,6	-5,68	-35,7	-8,13
		m	3,1	0,73	3,93	0,7	5,92	0,97	7,00	0,84
		p	<0,05	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Гіпоталамус	12	M	-6,9	-4,98	-15,1	-6,16	-22,1	-5,96	-28,9	-8,22
		m	4	0,42	4,64	0,5	4,86	0,79	7,29	0,76
		p	>0,1	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

ВИСНОВКИ

1. Профілактичне введення цитохрому С у дозі 0,3 мг/кг чинить виражену церебропротекторну дію в експерименті при моделюванні цереброваскулярних розладів, яка виявляється в запобіганні та різкому ослабленні розвитку відповідно внутрішньоклітинного та позаклітинного набряку мозкової тканини, достовірному зменшенні кровопостачання та реактивності судин головного мозку, а також у достовірному

суттєвому зниженні ступеня гіпоксії в корі великих півкуль, таламусі та гіпоталамусі.

2. Наявність незаперечних церебропротекторних властивостей у цитохрому С дозволяє рекомендувати його для комбінованої фармакологічної профілактики і корекції порушень мозкового кровообігу, в тому числі таких, що виникають при космічній формі хвороби руху.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бекетов А.И. Влияние вестибулопротекторов на мозговое кровообращение при болезни движения / А.И. Бекетов, Н.А. Скоромный // Итоги науки и техники. Т.26. Фармакология мозгового кровообращения.- М.: ВИНТИ, 1991.- С.87-104.

2. Бекетов А.И. Основы поиска церебропротекторов / А.И. Бекетов, И.В. Полевик, А.А. Бекетов. – Симферополь: 2009. - 316 с.

3. Бекетов А.И. Электроимпедансный метод оценки влияния средств на состояние ткани головного мозга / А.И. Бекетов, И.В. Полевик, И.Д. Сапегин // Фармакологічний вісник.-1998.-№3.-С.60-63.

4. Воробьев М.В. Новые возможности электроимпедансного метода оценки состояния ткани головного мозга / М.В. Воробьев, Г.Б. Вайнштейн // Физиол. журн. СССР.-1989.-Т.75, №11.-С.1630-1634.

5. Демченко И.Т. Кровоснабжение бодрствующего мозга / Демченко И.Т. - Л.: Наука, 1983.- 176 с.

6. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / [ред. – акад. АМНУ Стефанов О.В.]. – К.: Вид.дім “Авіцена”, 2002.- 527 с.

7. Костюченко А.Л. Современные реальности клинического применения антигипоксантов / А.Л.

Костюченко, Н.Ю. Семиголовский // Фарминдекс. Практик. - 2002. - Вып. 3. - С.20-27.

8. Москаленко Ю.Е. Реактивность мозговых сосудов: физиологические основы, информационная значимость, критерии оценки / Ю.Е. Москаленко // Физиол. журн. СССР.- 1986.-Т.72, №8.- С.1027-1038.

9. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та робіт з ними / Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайретдінова Г.А. – Київ: 2002. - 155 с.

10. Олейник С.А. Антигипоксанты в спортивной медицине и практике спортивной подготовки / С.А. Олейник, Н.А. Горчакова, Л.М. Гунина // Спортивна медицина. - 2008. - №1. - С. 66-73.

11. Полевик И.В., Сапегин И.Д. Электрод для регистрации локального мозгового кровотока методом водородного клиренса. Рационализаторское предложение №1924 от 08.04.1991 г. Крымский медицинский институт.

12. Сапегин И.Д. Устройство для моделирования укачивания в горизонтальном и антиортостатическом положении / И.Д. Сапегин, А.И. Бекетов // Космическая биология и авиакосмическая медицина.- 1993.- №1.- С.41-45.

13. Современные подходы к фармакологической коррекции гипоксических состояний / И.В. Коваль, Н.В. Вдовенко, В.А. Козловский [та ін.] // Спортивна медицина. - 2008. - №1. - С. 36-41.

14. Monnier M. Atlas for stereotaxic brain research on the conscious rabbit / M. Monnier, M. Gangloff. - Amsterdam: Elsevier Publishing company, 1961.- 145 p.

