

Оксидативний стрес нервової системи за умов експериментального МФТП-індукованого паркінсонізму: шляхи корекції нестероїдними протизапальними засобами

О.В.Макаренко

Дніпропетровська державна медична академія, кафедра фармакології,
клінічної фармакології та фармакоеконіміки
Дніпропетровськ, Україна

В роботі проаналізовані можливості корекції порушень функціональної активності системи антиоксидантного захисту головного мозку нестероїдними протизапальними засобами за умов нейротоксичної дії *N*-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридину (експериментальна модель паркінсонізму).

Встановлено, що сумісне використання леводопи з целекоксибом та амантадину з мелоксикамом сприяє зниженню у тканинах головного мозку рівня продуктів перекисного окислення ліпідів дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду при одночасній активації ферментів антиоксидантного захисту: супероксиддисмутази та каталази. Представлена порівняльна характеристика впливу даних комбінацій на процеси окислювальної модифікації білка. Показано, що за даних умов експерименту композиція леводопа з целекоксибом володіє найбільш виразними нейропротективними властивостями.

Ключові слова: експериментальний паркінсонізм, нестероїдні протизапальні засоби, оксидативний стрес, окислювальна модифікація білка, перекисне окислення ліпідів.

ВСТУП

Хвороба Паркінсона (ХП) — досить розповсюджене нейродегенеративне захворювання, яке розвивається внаслідок прогресуючої незворотної втрати дофамінергічних нейронів чор-

ної субстанції [1]. Основою сучасної концепції фармакотерапії паркінсонізму є усунення дефіциту дофаміну шляхом призначення його попередника — діоксифенілаланіну (L-ДОФА), зокрема засобів групи леводопи, а також використання блокаторів глутаматергічної передачі — засобів групи амантадину [2].

Відомо, що для ХП характерним є зниження активності антиоксидантної (АО) системи захисту мозку: зменшення вмісту глутатіону, зниження активності антиоксидантних ферментів каталази та супероксиддисмутази (СОД) та збільшення продукції вільних радикалів у процесі окислювального метаболізму дофаміну. Концепція ролі оксидативного стресу в патохімічних механізмах нейронального пошкодження при ХП визначає один з можливих шляхів патогенетичної терапії паркінсонізму — використання антиоксидантів чи засобів з антиоксидантними властивостями [3]. Ряд авторів вказують на позитивні результати терапії експериментального паркінсонізму за допомогою природних антиоксидантів. Так, α -токоферол та аскорбінова кислота при тривалому використанні та високих діючих дозах зменшують нейротоксичну дію *N*-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридину (МФТП) у мишей при паркінсонізмі, викликаного його системним введенням [4].

Крім класичних антиоксидантів здатність пригнічувати процеси вільно радикального окиснення притаманна засобам класу селективних інгібіторів ЦОГ-2 [5-7]. Враховуючи, що біль міофасціального походження є досить розповсюдженим проявом ХП, що спонукає хворого застосовувати беззаспокійливі препарати групи нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ), в тому числі селективні інгібі-

тори ЦОГ-2, ми вважали доцільним оцінити ступінь впливу зазначених препаратів на показники оксидативного стресу нервової системи за умов експериментального паркінсонізму.

Тому метою даної роботи, з урахуванням результатів раніше проведених досліджень [8, 9], була оцінка впливу комбінованого застосування НПЗЗ — целекоксибу та мелоксикаму з антипаркінсонічними засобами (леводопою та амантадином) на показники АО-захисту та процеси пероксидації білків у стріатумі головного мозку щурів за умов МФТП-індукованого паркінсонізму.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліди проведені на 40 білих щурах-самцях масою 280-320 г, котрі утримувались в стандартних умовах віварію [10]. У всіх тварин моделювали МФТП-індукований паркінсонізм шляхом внутрішньочеревного введення нейротоксину дозою 30 мг/кг одноразово. До моделювання паркінсонізму тварини вибірково були поділені на 5 дослідних груп по 8 тварин в кожній, котрим на протязі 5 днів внутрішньощунково вводились: I гр. — фіз. розчин (група контролю), II гр. — леводопа 50 мг/кг, III гр. — леводопа 50 мг/кг сумісно з целекоксибом 25 мг/кг, IV гр. — амантадин 50 мг/кг та V гр. — амантадин 50 мг/кг сумісно з мелоксикамом 1 мг/кг.

Оцінку антипаркінсонічної активності проводили згідно загально прийнятих методик [11], оцінюючи показники ригідності та тремору за бальною школою. На наступному етапі досліджень тварин виводили з експерименту з дотриманням загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах, ухвалених національним конгресом з біоетики (Київ, 2003), відповідно до Міжнародних принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментів та в інших наукових цілях» [12]. В стріатумі визначали ступінь активності ферментів АО-захисту супероксиддисмутази (СОД) та каталази, рівень перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [13] та ступінь окислювальної модифікації білка (ОМБ) [14]. Статистичну обробку результатів проводили за методом ANOVA [15].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Протягом 5 днів щурам вводились досліджувані комбінації. За цей час не відмічено змін

ТАБЛИЦЯ 1

Показники ригідності та тремору

Дослідні композиції	Ригідність		Тремор	
	% тварин	бали	% тварин	бали
Гр. I	100	1,62	100	2,25
Гр. II	75	1,0	100	1,25*
Гр. III	50	1,0	50	0,5*
Гр. IV	75	1,33	100	1,5*
Гр. V	62,5	1,0	62,5	0,87*

Примітка: * — $p \leq 0,05$ у порівнянні з показниками групи контролю

поведінки тварин, загальний стан характеризувався як заспокійливий, орієнтовно-дослідна функція не відрізнялась від показників вихідного стану. Після внутрішньочеревного введення нейротоксину МФТП стан тварин характеризувався загальною гіпокінезією з різним ступенем виразності, також реєструвались ознаки згорбленості (ригідності) та спостерігались прояви тремору (табл. 1).

Показано, що за даних умов експерименту всі досліджувані композиції проявили антипаркінсонічну дію. Так, на фоні отримання леводопи та леводопи сумісно з целекоксибом ригідність реєструвалась у 75% та 50% тварин відповідно з низькою оцінкою (1,0 бал). Крім того, в групі амантадин+мелоксикам теж спостерігалось зниження проявів ригідності (62,5% з оцінкою в 1,0 бал), що у порівнянні з групами амантадину та контролю є статистично значимою позитивною прогностичною ознакою.

Зіставляючи результати дії засобів та їх комбінацій спостерігались щодо проявів тремору. При додаванні до антипаркінсонічних засобів леводопи та амантадину НПЗЗ (целекоксибу та мелоксикаму відповідно) в дослідній групі значно знижувалася кількість тварин з проявами тремору (до 50%), котрий оцінювався в межах 0,5-0,87 бали при максимально можливих 3,0 бала.

На 90-й хвилині після введення МФТП тварин виводили з експерименту. Надалі в гомогенатах тканин головного мозку визначали ступінь активності ферментів АО-захисту, а також продуктів ПОЛ — дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіду (МДА).

Нашими результатами показано, що за умов експериментального паркінсонізму, у порівнянні з показниками інтактних тварин, в групі контролю значно підвищувався рівень продуктів ПОЛ: ДК — у 4,13 рази ($p \leq 0,05$), МДА — у 10,4 рази ($p \leq 0,05$). При цьому процесі ПОЛ спостерігалось зниження активності ферментів

ТАБЛИЦЯ 2
Вплив антипаркінсонічних засобів та дослідних комбінацій на окисну модифікацію білка за умов МФТП-індукованого паркінсонізму

Дослідні композиції	Продукти ОМБ, у.од./г білка	
	АФГ (270 нм)	КФГ (363 нм)
Гр. I	0,251±0,02	0,300±0,02
Гр. II	0,171*±0,01	0,189*±0,01
Гр. III	0,187*±0,02	0,209*±0,02
Гр. IV	0,200±0,01	0,237*±0,02
Гр. V	0,236±0,02	0,259±0,02

Примітка: * – $p \leq 0,05$ у порівнянні з показниками групи контролю

антиоксидантного захисту (СОД та каталази). Їх рівень знижувався на 97% та 58,6% відповідно за даних умов експерименту ($p \leq 0,05$).

Встановлено, що на фоні 5-денного курсу леводопи та амантадину мало місце статистично значиме зниження рівня вторинних продуктів ПОЛ (зокрема МДА) на 35,15% та 41,89% ($p \leq 0,05$). При цьому, у порівнянні з показниками групи контролю, суттєво зростала активність ферментів АО-захисту – СОД (137,0% і 96,0%) та каталази (86,9% і 121,6%) відповідно ($p \leq 0,05$).

Безперечно заслуговують уваги результати сумісного використання антипаркінсонічних засобів з НПЗЗ. Так, зазначені композиції виявили більш виражений, порівняно з моно застосуванням препаратів, антиоксидантний ефект: рівень активності СОД був збільшений у 2,5 рази для гр. III та у 2,75 рази для гр. V щодо показників контролю ($p \leq 0,05$). Також, у порівнянні з контрольною групою, зареєстровано статистично значиме зниження вмісту цитотоксичних продуктів ДК – у 2,6 рази для гр. III та у 1,57 рази для гр. V і МДА – у 2,52 рази для гр. III та у 2,27 рази для гр. V ($p \leq 0,05$).

Відомо, що основою нейротоксичної дії МФТП є гіперпродукція активних форм кисню (АФК). АФК в умовах антиоксидантної недостатності окислювально модифікують білки, ліпіди, ДНК мембран [14]. Аналізом концентрації альдегідних та карбоксильних груп амінокислотних залишків альдегідфенілгідразонів (АФГ) та кетонфенілгідразонів (КФГ) у щурів встановлено зростання цих показників ОМБ: АФГ у 1,62 рази та КФГ у 1,72 рази, у порівнянні з показниками інтактних тварин, ($p \leq 0,05$) (табл. 2).

За умов 5-денного введення досліджуваних комбінацій у щурів спостерігалось пригнічення процесів ОМБ різного ступеню вираженос-

ті. Так, при монотерапії антипаркінсонічними засобами леводопою та амантадином зареєстровано статистично значиме зниження КФГ на 37,0% та 21,0% відповідно ($p \leq 0,05$). Композиція леводопа+целеккоксид виявила свій антиоксидантний ефект зниженням найбільш нейротоксичного продукту ОМБ – КФГ на 30,3% ($p \leq 0,05$).

ВИСНОВКИ

Аналізом та узагальненням результатів проведених досліджень встановлено:

1. Додавання інгібіторів ЦОГ до антипаркінсонічної традиційної терапії сприяє зниженню рівня продуктів перекисного окислення ліпідів при одночасному підвищенні активності ферментів антиоксидантного захисту в головному мозку.

2. Сумісне використання антипаркінсонічних засобів з нестероїдними протизапальними засобами не здатне повноцінно сповільнювати окисну модифікацію білка.

3. Найбільш виражені нейропротекторні властивості за показниками інгібування процесів окислювальної модифікації білка спостерігаються при сумісному використанні леводопи з целеккоксидом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Каменецький В.К. Паркінсонізм (2-е изд.) / В.К.Каменецький // СПб: Питер, 2001. – 416 с.
2. Макаренко О.В. Хвороба Паркінсона: основні напрямки фармакотерапії (погляд фармаколога) // Вісник психіатрії та психофармакотерапії. – 2008. – №1 (13). – С. 91-96.
3. Кучеряну В.Г. Мексидол усиливает противопаркинсоническое действие L-ДОФА на модели МФТП-индуцированного паркинсонизма / В.Г.Кучеряну // Экспер. и клин. фармакология. – 2001. – Т. 64, №1. – С. 22-25.
4. Катуніна Е.А. Возможности антиоксидантной терапии у больных болезнью Паркинсона / Е.А.Катуніна // Экспер. и клин. фармакология. – 2005. – Т. 68, №5. – С. 16-18.
5. Макаренко О.В. Вибір знеболюючого засобу при паркінсонізмі за умов леводопотерапії // О.В.Макаренко / Медичні перспективи. – 2009. – Т. XIV, №2. – С. 22-28.
6. Макаренко О.В. Ефективність та безпечність знеболюючої терапії при паркінсонізмі за умов застосування амантадину (аналіз власних досліджень) // О.В.Макаренко, В.Й.Мамчур // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2008. – №5-6 (6-7). – С. 14-20.
7. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М.Кожем'якін, О.С.Хромов, М.А.Філоненко, Г.А.Сайретдінова. – К., 2002. – 155 с.

8. Макаренко О.В., Мамчур В.Й. Сучасний погляд на доклінічне вивчення антипаркінсонічних засобів // Ліки. — 2007. — №3-4. — С. 3-11.
9. Этика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідях // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. — 2003. — №2 (22). — С. 108-109.
10. Справочник по лабораторным методам исследования / Под ред. Л.А.Даниловой. — СПб.: Питер, 2003. — 736 с.
11. Губский Ю.И. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы) / Ю.И.Губский, И.Ф.Беленичев, Е.Л.Левицкий и др. // Сучасні проблеми токсикології. — 2005. — №3. — С. 8-15.
12. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. — К.: «Морион», 2001. — 408 с.
13. Moghaddam H.F. Effects of aspirin and celecoxib on rigidity in a rat of Parkinson's disease / H.F.Moghaddam, A.Hemmati, Z.Nazari et al. // Pak. J. Biol. Sci. — 2007. — №10 (21). — P. 3853-3858.
14. Moghaddam H.F. Dopaminergic but not glutamatergic neurotransmission is increased in the striatum after selective cyclooxygenase-2 inhibition in normal and hemiparkinsonian rats / H.F.Moghaddam, M.S.Ardestani, M.Saffari et al. // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. — 2008. — №103 (4) — P. 293-296.
15. Etminam M. NSAID use and the risk of Parkinson's disease / M.Etminam, S.Suissa // Curr. Drug Saf. — 2006. — №1(3). — P. 223-225.

О.В.Макаренко. Оксидативный стресс нервной системы в условиях экспериментального МФТП-индуцированного паркинсонизма: пути коррекции нестероидными противовоспалительными средствами. Днепрпетровск, Украина.

Ключевые слова: экспериментальный паркинсонизм, нестероидные противовоспалительные средства, оксидативный стресс, окислительная модификация белка, перекисное окисление липидов.

В работе проанализированы возможности коррекции нарушений функциональной активнос-

ти системы антиоксидантной защиты головного мозга нестероидными противовоспалительными средствами в условиях нейротоксического действия МФТП (экспериментальная модель паркинсонизма).

Установлено, что совместное использование леводопы с целекоксибом и амантадина с мелоксикамом способствует снижению в тканях головного мозга уровня продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов и малонового диальдегида) при одновременной активизации ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы и каталазы). Представлена сравнительная характеристика влияния данных комбинаций на процессы окислительной модификации белка. Показано, что в данных условиях эксперимента композиция леводопы с целекоксибом обладает наиболее выраженными нейропротекторными свойствами.

O.V.Makarenko. Oxidative stress of nervous system in the condition of experimental MPTP-induced parkinsonism: the ways of correction by non-steroid anti-inflammatory drugs. Dnepropetrovsk, Ukraine.

Key words: experimental parkinsonism, non-steroid anti-inflammatory drugs, oxidative stress, oxidizing modification of albumen, lipids peroxydation The possibilities of correction of brain antioxidant system functional activity defects by non-steroid anti-inflammatory drugs in the conditions of neurotoxic action of MPTP (experimental model of parkinsonism) were analyzed.

It was established that sharing of levodopa with celecoxibe and amantadin with meloxycame were instrumental in a decline in brain fabrics of level of lipids peroxydation products (DK and MDA) during simultaneous activation of antioxidant system enzymes (SOD and catalase). Comparative description of influence of these combinations was presented on the processes of oxidizing modification of albumen (OMA). It was roined that in the experiment the composition of levodopa with celecoxibe has most neuroprotective properties.

Надійшла до редакції 9.07.2009 р.