



I.A. Зупанець, О.Є. Грінцова

ВПЛИВ ГЛЮКОЗАМИНУ ГІДРОХЛОРИДУ НА ВУГЛЕВОДНО-ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН У ТКАНИНАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГОСТРІЙ ЦЕРЕБРАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: глюкозаміну гідрохлорид, ішемія головного мозку, вуглеводно-енергетичний обмін, церебропротекція.

Ключевые слова: глюкозамина гидрохлорид, ишемия головного мозга, углеводно-энергетический обмен, церебропротекция.

Key words: glucosamine hydrochloride, cerebral ischemia, carbohydrate-energy metabolism, cerebral protection.

Ішемічні ураження головного мозку широко розповсюджені як у всьому світі, так і в Україні. Висока летальність та частота випадків стійкої втрати працездатності зумовлюють необхідність пошуку нових високоефективних методів лікування. Недостатня ефективність існуючих лікарських засобів ускладнює цю проблему. Тому пошук та розробка лікарських засобів, що мають церебропротекторну активність є актуальним завданням сучасної нейрофармакології. Надані у цій статті результати експериментального дослідження дозволяють зробити висновок, що глюкозаміну гідрохлорид оптимізує процеси енергетичного синтезу у тканинах головного мозку і цим забезпечує церебропротекторний ефект.

Ишемические повреждения головного мозга широко распространены как во всем мире, так и в Украине. Высокая летальность и значительная частота случаев стойкой утраты трудоспособности обуславливают необходимость поиска качественных методов лечения. Недостаточная эффективность существующих средств усложняют проблему. Поэтому поиск и разработка лекарственных средств с церебропротекторными свойствами являются актуальной задачей современной нейрофармакологии. Представленные в настоящей статье результаты исследования позволяют заключить, что глюкозамина гидрохлорид оптимизирует процессы углеводно-энергетического обмена в головном мозге, и этим обеспечивает церебропротекторный эффект.

Ischemic brain damages gave wide prevalence in the world and in Ukraine specifically. The high lethality level and high frequency of disablement cause the need in quality treatment methods. The existing medicines are not enough effective that makes the problem more complicated. So research and development of new medicines with cerebroprotective activity is one of the main targets of the modern neuropharmacology. The given in this article investigation results enable to conclude, that glucosamine hydrochloride is optimizing the carbohydrate-energy metabolism in the brain. The established properties can provide the cerebroprotective activity of glucosamine hydrochloride.

Відомо, що на сьогодні судинні захворювання головного мозку (СЗГМ) є суттєвою соціально-медичною проблемою в зв'язку з високою розповсюдженістю, постійним ростом захворюваності, стійкою втратою працездатності, та високою смертністю населення [1,2]. Серед СЗГМ важливе місце належить гострому порушення церебрального кровотоку [5]. Зменшення кровопостачання призводить до глибоких змін перебігу біохімічних процесів в клітинах мозкової тканини, в першу чергу, біологічного синтезу макроергічних сполук. При гострій ішемії головного мозку в клітинах знижується швидкість аеробного окиснення біологічних субстратів на внутрішній мембрани мітохондрій. Збільшення вмісту протонів у мітохондріальному матриксі, загальмування їх руху у протилежному напрямку та активація неорганічного фосфату призводять до порушення синтезу аденоzinтрифосфату (АТФ), що сприяє прогресуванню внутрішньоклітинного енергетичного дефіциту [2].

Внаслідок активної утилізації глюкози за анаеробним шляхом відбувається її інтенсивна метаболізація до лактату, який в клітинах мозку перетворюється у піруват та використовується як енергетичний субстрат. У випадку збільшення дефіциту енергії, знижується активність Na^+/K^+ -АТФазної ферментної системи, що підтримує іонний градієнт клітинної мембрани, що призводить до деполяризації мембрани. Аноксична деполяризація мембрани нейронів формується у залежності від ступеня виразності та тривалості ішемії та призводить до загибелі нейронів [8].

Незважаючи на значні успіхи у вивченні різних аспектів патології, залишається багато невирішених питань, як серед виявлення механізмів розвитку захворювання, так і серед розробки високоефективних методів лікування [5].

Таким чином, пошук нових лікарських засобів, які активно, в умовах ішемії, впливають на процеси енергетичного синтезу в нейронах головного мозку є досить актуальним.

В зв'язку з цим привертає увагу природний аміноцикл глюкозаміну гідрохлорид (2-дезокси-2-аміно-D(+)-глюкози гідрохлорид), який входить до складу полісахаридів, глюкозаміногліканів, глікопротеїнів, ліпополісахаридів – складових частин біологічних мембрани, міжклітинної речовини та інших елементів сполучної тканини організму. Глюкозаміну гідрохлорид – природна сполука, практично безпечно для організму, добре засвоюється, не викликаючи суттєвих побічних ефектів [7,10].

МЕТОЮ даного ДОСЛІДЖЕННЯ було експериментальне вивчення впливу глюкозаміну гідрохлориду на процеси енергетичного синтезу у нейронах головного мозку щурів в умовах гострого порушення мозкового кровообігу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.

Відповідно до поставлених завдань, дослідження було проведено на 70 білих щурах лінії Вістар обох статей, масою 150-200 гр., які були отримані з розплідника ІФТ АМН України.

Гостре порушення мозкового кровообігу (ГПМК) моделювали двобічною перев'язкою загальних сонніх артерій під нембуталовим наркозом (40 мг/кг), з використанням хірургічного доступу шляхом виділення сонніх артерій та одночасного накладання на них шовкової лігатури [6].

Глюкозаміну гідрохлорид вводили внутрішньошлунково в дозі 50 мг/кг одразу після двобічної перев'язки загальних сонніх артерій та протягом ще трьох днів. Референтний препарат мексидол [4] вводили внутрішньошлунково в дозі



100 мг/кг за такою ж схемою.

Стан вуглеводно-енергетичного обміну визначали за рівнем найбільш важливих інтермедиатів – АТФ, АДФ та АМФ, лактату, пірувату та малату. Про ішемічне ураження тканин головного мозку робили висновок при вивчені гіперферментемії ВВ-КФК.

Аденілові нуклеотиди визначали методом тонкошарової хроматографії [9]. Вміст пірувату та лактату визначали за методом Цоха-Ломпрахта [9]. Кількість малату визначали за методом Хохорста [3].

Активність ВВ-КФК визначали після розділення на сефадексі ДЕАЕ-А-50 за оптичним тестом Варбурга [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Моделювання гострої ішемії головного мозку супроводжувалось значими змінами енергетичного обміну в клітинах головного мозку експериментальних тварин.

Отримані показники вмісту аденілових нуклеотидів на 4 добу після ГПМК наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Вміст аденілових нуклеотидів у тканині головного мозку експериментальних щурів на четверту добу після білатеральної перев'язки загальних сонних артерій

Досліджувана група	Вміст аденілових нуклеотидів (мкмоль/г)		
	АТФ	АДФ	АМФ
Інтактна група	2,86±0,06	0,46±0,01	0,132±0,004
Контрольна патологія	0,89±0,05	0,26±0,02	0,215±0,008
Мексидол	2,12±0,08*	0,28±0,02	0,156±0,007*
Глюкозаміну гідрохлорид	2,59±0,06**	0,36±0,02**	0,137±0,007*

Примітка: * – відхилення показника достовірні відносно контрольної групи ($p<0,05$);

** відхилення показника достовірні відносно групи мексидолу ($p<0,05$).

Як видно з даних табл. 1, у групі контрольної патології на 4 добу експерименту рівень АТФ знизився у 3,2 рази ($0,89±0,05$ мкмоль/г проти $2,86±0,06$ мкмоль/г відповідно). При цьому рівень АДФ знизився майже у 1,8 рази при порівнянні з групою інтактну ($0,26±0,02$ мкмоль/г при $0,46±0,01$ мкмоль/г). У той же час встановлено збільшення концентрації АМФ до $0,215±0,008$ мкмоль/г, у порівнянні з $0,132±0,004$ мкмоль/г у групі інтактних щурів. Зсуви усіх показників достовірні ($p<0,05$).

Таким чином, зміни вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах головного мозку свідчать про формування значного енергодефіцитного стану.

Оцінка результатів застосування референтного препарату мексидол показала, що рівень нуклеотидів також зазнавав суттєвих змін. Так, рівень концентрації АТФ складав $2,12±0,08$ мкмоль/г, що було достовірно нижче, ніж у інтактних тварин ($p<0,05$), але в той же час, статистично значно ($p<0,05$) перевищувало показник контрольної групи. Рівень АДФ достовірно знизився (до $0,28±0,02$ мкмоль/г) порівняно до групи інтактних щурів та статистично

значно не відрізнявся від контрольної групи ($p>0,05$). Концентрація АМФ ($0,156±0,007$ мкмоль/г) була вища, ніж в групі інтактних тварин, однак достовірно менша ($p<0,05$), ніж в контрольній групі.

У групі тварин, що отримували глюкозаміну гідрохлорид, зниження вмісту АТФ та АДФ було найменш виразним ($2,59±0,06$ мкмоль/г і $0,36±0,02$ відповідно), при цьому показник був достовірно більша ($p<0,05$), ніж у контролі та групі щурів, що отримували мексидол. Підвищення рівня АМФ до $0,137±0,007$ мкмоль/г було достовірно меншим ($p<0,05$), ніж у контролі.

Одним із завдань дослідження було вивчення змін вуглеводного обміну в умовах гострої ішемії головного мозку у експериментальних тварин.

Дані вмісту продуктів вуглеводно-енергетичного обміну в тканині головного мозку у експериментальних тварин наведені в таблиці 2.

Таблиця 2
Вміст продуктів вуглеводно-енергетичного обміну (мкмоль/г) у тканині головного мозку експериментальних тварин на четверту добу після білатеральної перев'язки загальних сонних артерій

Досліджувана група	Вміст продуктів вуглеводно-енергетичного обміну (мкмоль/г)		
	Піруват	Лактат	Малат
Інтактна група	0,48 ± 0,008	2,61 ± 0,08	0,26 ± 0,007
Контрольна патологія	0,22 ± 0,01	8,46 ± 0,29	0,105 ± 0,002
Мексидол	0,26 ± 0,007*	6,28 ± 0,15*	0,118 ± 0,002*
Глюкозаміну гідрохлорид	0,4 ± 0,009**	5,05 ± 0,15**	0,17 ± 0,002**

Примітка: * – відхилення показника достовірні відносно контрольної групи ($p<0,05$);

** відхилення показника достовірні відносно групи мексидолу ($p<0,05$).

На четверту добу після ГПМК у групі контрольної патології відмічалось збільшення концентрації лактату в 3,2 раза, у порівнянні з інтактними тваринами ($8,46 ± 0,29$ мкмоль/г та $2,61 ± 0,08$ мкмоль/г відповідно) при зниженні вмісту пірувату у 2,2 раза ($0,22 ± 0,01$ мкмоль/г при $0,48 ± 0,008$ мкмоль/г у інтакту) та малату у 2,6 раза ($0,10 ± 0,002$ мкмоль/г при $0,26 ± 0,007$ мкмоль/г у інтакту). Зсуви усіх показників достовірні ($p<0,05$).

Таким чином, можна стверджувати, що виявлені зміни свідчили про активацію анаеробного шляху утворення енергії у клітинах головного мозку.

У групі тварин, що отримували мексидол, рівень лактату підвищився у 2,4 раза (до $6,28 ± 0,15$ мкмоль/г) у порівнянні з інтактом ($p<0,05$), однак він був достовірно менший ($p<0,05$), ніж у контролі групі. Ступінь зниження кількості пірувату (до $0,26 ± 0,007$ мкмоль/г) та кількості малату (до $0,12 ± 0,002$ мкмоль/г) була значно меншою при порівнянні з контрольною групою ($p<0,05$). На тлі застосування глюкозаміну гідрохлориду, вміст лактату збільшився



у 1,9 рази (до $5,05 \pm 0,15$ мкмоль/г), але був достовірно ($p \leq 0,05$) нижчий, ніж у контролі та у тварин, що отримували мексидол. Концентрація пірувату склада 0,4 ± 0,009 мкмоль/г, а малату – $0,17 \pm 0,002$ мкмоль/г. Показники були достовірно ($p < 0,05$) вищі, ніж у контрольній групі та групі тварин, що отримували мексидол.

Для вирішення поставлених завдань важливе значення мало також вивчення вмісту церебрального ізоензиму креатинфосфокінази у сироватці крові експериментальних тварин на четверту добу після білатеральної перев'язки загальних сонних артерій (табл.3).

Таблиця 3

Вміст церебрального ізоензіму креатинфосфокінази ВВ-КФК (мМ/л/год) у сироватці крові експериментальних тварин на четверту добу після білатеральної перевязки загальних сонних артерій

Досліджувана група	Вміст креатинфосфокінази (мМ/л/год)
Інтактна група	$0,023 \pm 0,001$
Контрольна патологія	$0,146 \pm 0,001$
Мексидол	$0,1 \pm 0,002^*$
Глюкозамінугідрохлорид	$0,046 \pm 0,001^{**}$

Примітка: * – відхилення показника достовірні відносно контрольної групи ($p < 0,05$);

** відхилення показника достовірні відносно групи мексидолу ($p < 0,05$).

Дані, наведені в таблиці 3, свідчать, що на 4 добу експерименту у групі контрольної патології вміст ВВ-КФК у 6,3 рази перевищував рівень ферменту у інтактних тварин ($0,146 \pm 0,001$ мМ/л/год та $0,023 \pm 0,001$ мМ/л/год відповідно). На тлі застосування мексидолу концентрація ВВ-КФК підвищилась у 4,3 раза (до $0,1 \pm 0,002$ мМ/л/год), однак вона була достовірно ($p < 0,05$) менша, ніж у контролі. Застосування глюкозаміну гідрохлориду супроводжувалось підвищенням рівня ферменту тільки у два рази та складо $0,046 \pm 0,001$ мМ/л/год, що статистично значно ($p < 0,05$) відрізнялось не тільки від контролю, але було достовірно ($p < 0,05$) нижче, ніж при використанні мексидолу.

Таким чином, ішемія головного мозку, викликана двобічною перев'язкою загальних сонних артерій, призводила до виразних порушень енергетичного обміну у мозку експериментальних тварин. Це відобразилося у зсувах у вмісті аденоїлових нуклеотидів – значним зниженням рівня АТФ, АДФ та підвищеннем рівня АМФ. Паралельно зі зменшенням енергоутворення за аеробним шляхом, активізувався анаеробний шлях, про що свідчило підвищення концентрації лактату та зменшення вмісту пірувату та малату. Порушення утворення енергії супроводжувались зниженням активності Na^+/K^+ -АТФазної ферментної системи з наступною зміною іонного градієнта клітинної мембрани, що призводило до її деполяризації. Маркером даного процесу є церебральний ізоензим креатинфосфокіназа, внутрішньоклітинний

фермент, концентрація якого у крові відображає ступінь проникності мембран нейроцитів. На 4 день експерименту рівень ВВ-КФК більш ніж у 6 разів перевищував рівень ферменту у інтактних тварин.

Введення експериментальним тваринам глюкозаміну гідрохлориду супроводжувалось значним зниженням ступеня порушень енергетичного обміну. Рівень макроергічних сполук АТФ та АДФ у мозку щурів був вищим, а вміст АМФ виявився меншим, ніж у тварин з контрольною патологією. Встановлена також менша виразність порушень і у вуглеводно-енергетичному обміні нейронів. У порівнянні з контрольними тваринами вміст лактату був меншим, а концентрація пірувату і малату вищою. В умовах крашової енергозабезпечення менш страждала й енергозалежна Na^+/K^+ -АТФазна мембранна ферментна система, про що свідчив більш низький рівень ВВ-КФК.

Слід відзначити, що на тлі застосування глюкозаміну гідрохлориду зміни показників енергетичного обміну були достовірними не тільки по відношенню до групи контрольної патології, але й по відношенню до групи тварин, що отримували референтний препарат мексидол.

Підводячи підсумок, можна сказати, що глюкозаміну гідрохлорид має властивість оптимізувати процеси енергетичного синтезу у головному мозку, чим забезпечує церебропротекторний ефект.

ВИСНОВКИ

Глюкозаміну гідрохлорид в умовах гострого порушення мозкового кровообігу оптимізує обмін аденоїлових нуклеотидів, що виявляється вірогідним по відношенню до групи контрольної патології підвищеннем концентрації макроергічних сполук АТФ, АДФ і зниженням вмісту АМФ на 4 добу експерименту.

Глюкозаміну гідрохлорид здійснює нормалізуючий вплив на вуглеводно-енергетичний обмін, що підтверджується достовірно нижчим рівнем лактату і більшим вмістом пірувату та малату в тканинах головного мозку щурів на 4 добу після гострого порушення мозкового кровообігу.

Глюкозаміну гідрохлорид в умовах гострого порушення мозкового кровообігу стабілізує активність Na^+/K^+ -АТФазної мембранної ферментної системи, про що свідчить достовірно нижчий рівень церебрального ізоензиму креатинфосфокінази у порівнянні з групою контролю.

Нормалізуючий вплив глюкозаміну гідрохлориду на процеси енергетичного синтезу в тканинах головного мозку при гострому порушенні мозкового кровообігу свідчить про його церебропротекторну дію.

ЛІТЕРАТУРА

1. Зозуля І.С. Гострі порушення мозкового кровообігу як критичні стани в невропатології / Зозуля І.С., Боброва В.І. // Укр. неврологічний журнал. – 2006. – №1. – С. 5-8.
2. Гусев Е.И. Ишемия головного мозга. / Гусев Е.И., Скворцова В.И. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.
3. Камышников В.С. Клиническая биохимическая лабораторная диагностика. – Минск, 2003. – 345с.
4. Мексидол в клинике и эксперименте. Приложение 1 к журналу «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины». – М: Издательство РАМН, 2006. – 249с.



5. Острая церебральная недостаточность. / Черний В.И., Ельский В.Н., Городник Г.А., Колесников А.Н. — Донецк: ООО «ИПП «Проминь», 2007. — 514 с.
6. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. Рекоменд. / За ред. Чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: «Авіцена», 2002. — 527с.
7. Туляков В.О.Фармакологічні властивості глюкозаміну: мембрано стабілізуючі, протизапальні, антиоксидантні і імунотропні / Туляков В.О., Зупанець К.О., Шебеко С.К. // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2009. — №2. — С. 3-6.
8. De la Ossa N.P.Neuroprotection in cerebral infarction: the opportunity of new studies. / De la Ossa N.P., Davalos A. // Cerebrovasc. Dis., 2007. — № 24. — P.153-156.
9. Kolesnik Y. M.Image analysis system for quantitative immunofluorescence measurement / Kolesnik Y. M., Abramov A.V. // Microscopy and Analysis. — 2002. — №5. — P.12-16.
10. Vangsness C.T. Jr: A review of evidence-based medicine for glucosamine and chondroitin sulfate use in knee osteoarthritis / Vangsness C.T. Jr., Spiker W., Erickson J. // Arthroscopy. — 2009. — № 25(1). — P.86-94.

Відомості про авторів:

Зупанець Ігор Альбертович, професор, доктор медичних наук, Національний фармацевтичний університет, завідувач кафедрою клінічної фармакології з фармацевтичною опікою.

Грінцова Ольга Євгенівна, Національний фармацевтичний університет, аспірант кафедри клінічної фармакології з фармацевтичною опікою.

Адреса для листування: 61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 27, тел. 057 706 30 59, 057 706 30 72, факс: 057 706 30 72
e-mail: grin_olga@mail.ru