

В. Д. Лук'янчук, К. О. Шебалдова

Антирадикальний захист головного мозку сполукою ВІТАГЕРМ-3 за умов гіпоксичного пошкодження

ДЗ «Луганський державний медичний університет»

Ключові слова: гіпоксії замкнутого простору, вільнорадикальні реакції, біохемілюмінесценції, ВІТАГЕРМ-3

Гіпоксія є одним із найпоширеніших патологічних процесів, тому питання вивчення механізмів захисту організму та його адаптації до цього пошкоджуючого фактора завжди залишаються актуальними [1].

Ключовою ланкою патогенезу гіпоксії головного мозку є надмірна неконтрольована активація вільно-радикальних процесів у нейронах, що виникає при некомпенсованому зниженні функціональної активності компонентів системи антиоксидантного захисту організму [2, 3]. Надлишок продукції вільних радикалів відзеркалює не тільки ступінь оксидативного стресу та тяжкість плинущу гіпоксії, але й призводить до порушення метаболічних процесів та структурно-функціонального стану мембран клітин, зокрема, мітохондрій [4–6]. Отже, від стану прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу залежить резистентність організму до дії гіпоксичного чинника.

Корекція порушень, що розвиваються на тлі вільно-радикальної агресії та неспроможності природних механізмів антиоксидантного захисту, за допомогою препаратів, які мають водночас антиоксидантну й антигіпоксичну активність, є, з нашої точки зору, цілком виправданою та найраціональнішою. До числа фармакологічних речовин, що мають такі поєднані властивості, можна віднести новий клас комплексних сполук германію, а саме координаційну сполуку германію з діетилентриамінпентаоцтовою кислотою та калієм (ВІТАГЕРМ-3), що у скринінгових дослідженнях на моделі гіпоксичної гіпоксії з прогресуючою

гіперкапнією виявила виразну проти-гіпоксичну активність. *Мета дослідження* – вивчити кінетику вільно-радикальних процесів у тканині головного мозку щурів із гіпоксією замкнутого простору на тлі профілактичного застосування ВІТАГЕРМ-3.

Матеріали та методи. Дослідження виконані на 47 білих статевозрілих безпородних щурах обох статей масою 190–230 г відповідно до методичних рекомендацій ДП «Державний експертний Центр МОЗ України» (ДП «ДЕЦ МОЗ України») [7] у лабораторії кафедри фармакології ДЗ «Луганський державний медичний університет», яка сертифікована ДП «ДЕЦ МОЗ України» на предмет проведення доклінічних досліджень лікарських засобів (посвідчення від 25 грудня 2008 року № 03).

Експериментальною моделлю був патологічний процес, що розвивається у тварин за умов замкнутого простору. Моделювання гіпоксії з прогресуючою гіперкапнією проводили шляхом розміщення щурів в ізольовані скляні гермооб'єми (10 дм³), які перевертали догори дном і опускали в піднос з водою, щоб попередити потрапляння повітря. Експозиція складала 30 хв.

Усі тварини були розподілені на 4 групи: інтактну («здорові» щури), контрольну (гіпоксія), дослідну (гіпоксія + ВІТАГЕРМ-3) та референтну (гіпоксія + мексидол). Тваринам дослідної групи внутрішньочеревно вводили ВІТАГЕРМ-3 у вигляді 1 % водного розчину в раніше розробленому дозовому режимі: 49 мг/кг за 36 хв до початку моделювання гіпоксії замкнутого простору. Препаратом порівняння обрано мексидол (виробництво «Фармасофт», Російська Федерація), який щурам вводили в дозі 100 мг/кг за 36 хв до початку розвитку гіпоксичного синдрому, що моделю-

вався. Тварини контрольної групи отримували в такому самому режимі дозування фізіологічний розчин натрію хлориду.

Інтенсивність вільно-радикальних реакцій у корі головного мозку, як найвразливішої структури за умов гіпоксичного пошкодження, визначали за допомогою метода біохемілюмінесценції (БХЛ) у динаміці: через 6 та 24 год з моменту реоксигенації. Гомогенат тканини мозку (концентрація 20 %) готували на льоду протягом 5 хв після забору біосубстрату на охолодженому (4 °C) ізотонічному розчині натрію хлориду. У роботі використовували удосконалений співробітниками кафедри метод визначення в тканинах активності процесів БХЛ, що індукували 3 % розчином перекису водню [8]. Біохемілюмінограми гомогенату головного мозку реєстрували протягом 3 хв з моменту індукції за допомогою хемілюмінометра «Emilite-1105». Спектральний діапазон приладу складає 350–390 нм, а діапазон вимірювань – 10^3 – 10^{10} фотон/с. Досліджуваний біосубстрат попередньо інкубували (15 хв при 37 °C). Перед виміром записували фонові значення та рівень спонтанної БХЛ.

Кінетику вільно-радикальних реакцій оцінювали за показниками амплітуди швидкого спалаху (I_1), кінцевим значенням інтенсивності світіння (I_k), а також загальною світлосумою реакції (S). Розрахунок досліджуваних параметрів проводили за допомогою спеціально розробленої на кафедрі фармакології ДЗ «Луганський державний медичний університет» комп'ютерної програми в системі програмування Delphi. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням критерію t-Стьюдента за програмою «Statgraphics».

Результати та їх обговорення. Результати дослідження впливу ВІТАГЕРМ-3 на кінетику вільно-радикальних реакцій у нейронах головного мозку щурів у періоді постгіпоксичного відновлення наведено в таблиці.

Аналіз зміни амплітуди швидкого спалаху (I_1) БХЛ у нейронах мозку, яка відображає інтенсивність генерації вільних радикалів, показує, що в контрольній групі цей показник більший у середньому в 1,7 разу ($P < 0,001$) порівняно з інтактною серією. Цей

факт, на нашу думку, обумовлений гіперактивацією процесів деструкції основних субстратів ліпідпероксидації – фосфоліпідів мембран нейронів та їхніх органел, що супроводжується прискоренням продукції перекисних вільних радикалів та виснаженням ендогенних антиоксидантів за умов гіпоксії замкнутого простору. У результаті цього відбувається зсув прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в мозку щурів у період реоксигенації в бік активації перекисних процесів.

У групі тварин з гіпоксичним синдромом, яким попередньо вводили ВІТАГЕРМ-3, вже на 6 та 24 год періоду постгіпоксичного відновлення реєструється зниження величини I_1 на 20 % та 34 % відповідно (таблиця). Ці дані, як нам видається, слід розцінювати як виражену здатність досліджуваного антигіпоксанта запобігати гіперпродукції вільних радикалів у корі головного мозку завдяки інгібуванню реакцій переокиснення ліпідів.

Варто зазначити, що при вивченні впливу ВІТАГЕРМ-3 на динаміку значень I_1 у корі головного мозку встановлено, що цей показник БХЛ наближається до величин, зареєстрованих у «здорових» тварин. Більш того, вже на 24 год експерименту рівень I_1 у дослідній групі не відрізняється від показників інтактної серії ($P > 0,05$).

Заслужовує на увагу відсутність вірогідних відмінностей значення параметра I_1 упродовж дослідження в дослідній та референтній групі ($P > 0,05$). Цей експериментально встановлений факт можна трактувати як виражену здатність потенційного антигіпоксанта пригнічувати утворення вільних радикалів та попереджати розгалуження ланцюгових реакцій у корі головного мозку за умов гіпоксії замкнутого простору.

Наступним показником, що аналізується на кінетичній кривій БХЛ, є кінцеве значення інтенсивності світіння (I_k), яке відображає зміни динамічної рівноваги між процесами генерації та знешкодження «люмінесцентних» продуктів ПОЛ. Аналізуючи динаміку змін даного параметра в контрольній серії, видно, що через 6 та 24 год після моделювання форми гіпоксії, що вивча-

Показники біохемілюмінесценції у корі головного мозку щурів за умов гіпоксії та профілактичного введення ВІТАГЕРМ-3, n = 6

Група тварин	Статистичний показник	Термін дослідження (год)	
		6	24
Амплітуда швидкого спалаху надслабкого світіння (I_1), імп/с			
Інтактна	M ± m	192,00 9,46	
Контрольна	M	356,83	284,00
	± m	7,44	8,08
	P ₁	< 0,001	< 0,001
Дослідна	M	284,83	188,50
	± m	10,37	8,90
	P ₁	< 0,001	> 0,05
	P ₂	< 0,01	< 0,001
	P ₃	> 0,05	> 0,05
Референтна	M	290,00	188,17
	± m	12,28	14,82
	P ₁	< 0,001	> 0,05
	P ₂	< 0,01	< 0,01
Кінцеве значення інтенсивності світіння (I_k), імп/с			
Інтактна	M ± m	58,17 2,48	
Контрольна	M	85,00	71,00
	± m	2,89	1,26
	P ₁	< 0,001	< 0,01
Дослідна	M	68,50	55,50
	± m	2,43	1,06
	P ₁	< 0,05	> 0,05
	P ₂	< 0,01	< 0,001
	P ₃	> 0,05	< 0,05
Референтна	M	67,50	62,00
	± m	3,11	1,93
	P ₁	> 0,05	> 0,05
	P ₂	< 0,01	< 0,05

Примітка. P₁ – порівняно з інтактною групою (P < 0,05); P₂ – порівняно з контрольною групою (P < 0,05); P₃ – порівняно з референтною групою (P < 0,05).

ється, величина I_k більша за аналогічний показник у «здорових» щурів у 1,5 та 1,2 разу відповідно. Це, безумовно, свідчить про виснаження ресурсів ендогенних антиоксидантів у поєднанні з гіперінтенсифікацією процесів ПОЛ уже в ранні терміни знаходження щурів у замкнутому просторі.

У той самий час, у щурів, яким з профілактичною метою вводили ВІТАГЕРМ-3, спостерігається інша картина змін I_k . Так, уже через 6 год від початку реоксигенації дослідних щурів реєструється зменшення даного показника

на 19 %, а через 24 год – на 22 % порівняно з контролем (таблиця). Доведений факт порівняно високої антирадикальної активності потенційного антигіпоксанта, на нашу думку, реалізується усуненням дисбалансу процесів синтезу і розпаду перекисних продуктів. Не виключено й те, що ВІТАГЕРМ-3 притаманні антиоксидантні властивості прямої чи непрямої дії.

Потрібно також зазначити, що ВІТАГЕРМ-3 за показником I_k не має вірогідних відмінностей (P > 0,05) з референтом та «здоровими» тваринами.

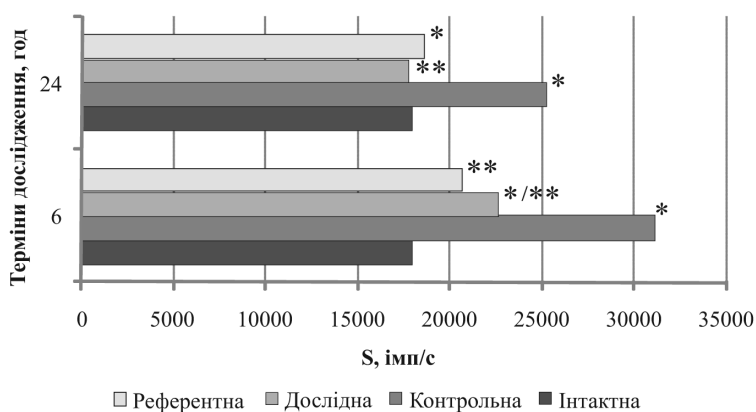


Рисунок. Показники загальної світлосуми БХЛ-реакції (імп/с) у корі головного мозку щурів за умов гіпоксії замкнутого простору та профілактичного введення ВІТАГЕРМ-3 ($n = 6$).

Примітка. *Порівняно з інтактною групою ($P < 0,05$); **порівняно з контрольною групою ($P < 0,05$).

Одним із найінформативніших параметрів БХЛ-аналізу ефективності фармакотерапевтичних засобів за умов гострих кисеньдефіцитних станів [9–13] є такий інтегральний показник як загальна світлосума БХЛ-реакцій (S), котрий являє собою площу під хемілюмінесцентною кривою.

Результати визначення показників S у тварин усіх досліджуваних груп наведено на рисунку, з якого видно, що перебіг періоду реоксигенації в контролі характеризується суттєвим збільшенням цього параметра БХЛ порівняно з інтактною серією.

Профілактичне введення ВІТАГЕРМ-3 суттєво змінює значення показника, що аналізується, у бік його зменшення. Примітним є той факт, що величина S на 24 год дослідження під впливом потенційного антигіпоксанта не відрізняється ($P > 0,05$) не тільки від референтного препарату, а й від «здорових» тварин упродовж усього

експерименту. Це свідчить про підвищення стійкості біомембран головного мозку до вільнорадикального окиснення при попередньому введенні ВІТАГЕРМ-3 щурам за умов гіпоксії замкнутого простору.

Висновок

За умов гіпоксичної гіпоксії з прогресуючою гіперкапнією у корі головного мозку щурів відбувається ініціація вільнорадикальних процесів та інтенсифікація ПОЛ. За даними БХЛ, ВІТАГЕРМ-3 при профілактичному введенні має виразну антирадикальну активність, що забезпечує ефективне зменшення надмірної неконтрольованої продукції вільних радикалів та корекцію прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу вже в ранній період реоксигенації.

1. Гриневиц И. В. Влияние адаптации к гипоксической гипоксии на клеточный состав селезенки / И. В. Гриневиц // Патология. – 2011. – Т. 8, № 2. – С. 127–129.
2. Влияние острой гипоксии на антиокислительную активность ткани печени у крыс с разной устойчивостью к гипоксии / О. Р. Грек, В. И. Шарапов, Е. В. Тихонова [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – № 7. – С. 60–62.
3. Срубиллин Д. В. Антирадикальная и антиоксидантная активность комплексного соединения 5-окси-6-метилурацила с янтарной кислотой и его эффективность при гипоксических состояниях / Д. В. Срубиллин, Д. А. Еникеев, В. А. Мышкин // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 6. – С. 166–170.
4. Активация свободнорадикального окисления – эфферентное звено типовых патологических процессов / под ред. Н. П. Чесноковой, М. Ю. Ледванова. – Саратов: Изд-во Саратов. мед. ун-та, 2006. – 177 с.

5. Вплив мексидолу на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз та процеси окисного фосфорилування в мітохондріях міокарда щурів за умов гострої гіпоксії / М. М. Стешенко, О. О. Гончар, В. І. Носарь [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія.– 2010.– № 4 (17).– С. 64–69.
6. О роли активации свободнорадикального окисления в структурной и функциональной дезорганизации биосистем в условиях патологии / Н. П. Чеснокова, В. В. Моррисон, Е. Ф. Понукалина [и др.] // Фундаментальные исследования.– 2009.– № 5.– С. 122–130.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / під ред. чл.– кор. АМН України О. В. Стефанова.– К.: Авіцена, 2002.– 567 с.
8. Методические рекомендации по использованию метода биохемилюминисценции в фармакологии / [В. Д. Лукьянчук, А. В. Стефанов, Л. В. Савченкова и др.]; под ред. проф. В. Д. Лукьянчука.– Луганск, 1997.– 18 с.
9. Лук'яничук В. Д. Динаміка показників біохемілюмінесценції у тварин при закритій черепно-мозковій травмі та лікуванні ацетилцистеїном / В. Д. Лук'яничук, В. С. Федорова // Інтегративна антропологія.– 2012.– № 1 (19).– С. 34–38.
10. Житіна І. О. Біохемілюмінометрія сироватки крові та головного мозку при цереброваскулярній недостатності та лікуванні ОК-7 / І. О. Житіна // Інтегративна антропологія.– 2012.– № 1 (19).– С. 38–41.
11. Рисухіна Н. В. Біохемілюмінісцентний аналіз детоксикуючої дії координаційної сполуки германію з магнієм та оксиетилідендифосфоною кислотою на моделі травматичної хвороби / Н. В. Рисухіна // Український журнал екстремальної медицини ім. Г. О. Можаєва.– 2008.– № 1.– С. 30–35.
12. Гаврилов І. І. Біохемілюмінісцентний аналіз стану прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу при краш-синдромі та фармакокорекції корвітином / І. І. Гаврилов // Журнал екстремальної медицини ім. Можаєва.– 2011.– № 3.– С. 50–54.
13. Лучишин Т. Р. Динаміка змін параметрів вільнорадикальних процесів за умов ендогенної інтоксикації та фармакотерапії МІГУ-5 / Т. Р. Лучишин // Современные проблемы токсикологии.– 2011.– № 1–2.– С. 56–59.

В. Д. Лукьянчук, К. А. Шебалдова

Антирадикальная защита головного мозга соединением ВИТАГЕРМ-3 при гипоксическом повреждении

Полученные в эксперименте данные свидетельствуют об уменьшении интенсивности свободнорадикальных реакций при применении с профилактической целью в условиях гипоксии замкнутого пространства координационного соединения германия с диэтиленetriаминпентауксусной кислотой и калием (ВИТАГЕРМ-3). Это является основанием для утверждения о том, что ВИТАГЕРМ-3 обладает весьма выраженными антирадикальными свойствами.

Ключевые слова: гипоксии замкнутого пространства, свободнорадикальные реакции, биохемилюминисценции, ВИТАГЕРМ-3

V. D. Lukyanchuk, K. O. Shebaldova

Antiradical protection of the brain by VITAGERM-3 in hypoxic damage

The data obtained indicate a decrease in the intensity of free radical reactions in case of prophylactic administration of complex coordination compound of germanium with diethylenetriaminepentaacetic acid and potassium (VITAGERM-3) at conditions of closed space hypoxia. This is the basis for the statement that VITAGERM-3 possesses a very pronounced antiradical properties.

Key words: hypoxia of enclosed space, free-radical reactions, biochemiluminescence, VITAGERM-3

Надійшла: 04. 04.2013 р.

Контактна особа: Лук'яничук Віктор Дмитрович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», кв. 50-річчя Оборони Луганська, 1, м. Луганськ, 91045. Тел.: +38 0642 63 02 77.