

В.И. Жилюк, В.И. Мамчур, А.Э. Левых

Значение эндотелиотропных и антиагрегантных свойств в нейропротективном действии прамирацетама при аллоксановом диабете

Днепропетровская государственная медицинская академия

Ключевые слова: аллоксановый диабет, эндотелиальная дисфункция, агрегация тромбоцитов, прамирацетам.

Установлено, что в условиях экспериментального сахарного диабета, курсовое применение прамирацетама в 2,5 раза ($p < 0,01$) повышает экспрессию eNO-синтазы, снижает на 65% ($p < 0,01$) уровень нитротирозина в сосудистой ткани, а также сопровождается существенным угнетением агрегации тромбоцитов.

Значення ендотеліотропних і антиагрегантних властивостей в нейропротективній дії прамирацетама при аллоксановому діабеті

В.І. Жилюк, В.І. Мамчур, А.Е. Левих

Встановлено, що за умов експериментального цукрового діабету, курсове застосування прамирацетама в 2,5 рази ($p < 0,01$) підвищує експресію eNO-синтази, знижує на 65% ($p < 0,01$) рівень нітротирозину в судинній тканині, а також супроводжується суттєвим пригніченням агрегації тромбоцитів.

Ключові слова: аллоксановий діабет, ендотеліальна дисфункція, агрегація тромбоцитів, прамирацетам.

Патологія. – 2010. – Т. 7., №1. – С. 56-58

Significance of endotheliotropic and antiaggregative properties in neuroprotective action of pramiracetam in alloxan diabetes

V.I. Zhylyuk, V.I. Mamchur, A.E. Levykh

Course administration of pramiracetam in conditions of experimental diabetes mellitus resulted in increase of eNO-synthase expression in 2,5 times ($p < 0,01$), in decrease of nitrotyrosine level in vascular tissue by 65% ($p < 0,01$) and also it is accompanied by significant inhibition of platelet aggregation.

Key words: alloxan diabetes, endothelial dysfunction, platelet aggregation, pramiracetam.

Pathologia. 2010; 7(1): 56-58

На сегодняшний день основными причинами летальности при сахарном диабете (СД) являются сердечно-сосудистые осложнения, обусловленные гипергликемией, которая лежит в основе развития эндотелиальной дисфункции, оксидативного стресса, нарушений реологических свойств крови и гемостаза. Генерализованная диабетическая эндотелиальная дисфункция (ЭД) характеризуется отсутствием клинической симптоматики, обратимостью ранних этапов изменений эндотелия и имеет важное значение для предупреждения тяжелых кардиоваскулярных осложнений [1]. Характерно, что ЭД наряду с инсулиновой резистентностью наблюдается уже на ранних этапах формирования СД 2 типа, течение которого происходит и без существенной гипергликемии [2]. Доказана связь между механизмами повреждения при хронической, острой церебральной ишемией и ЭД [3]. Также установлена и роль ЭД в развитии диабетической энцефалопатии [4].

Одним из направлений лечения цереброваскулярной патологии является целенаправленная медикаментозная терапия, которая предполагает назначение препаратов, улучшающих кровообращение и состояние метаболических процессов в мозговой ткани – ноотропов. В литературе встречаются сведения о положительном влиянии этих средств на ЭД при ишемических состояниях головного мозга, однако остается недостаточно выясненными механизмы и действие этих препаратов

на функцию эндотелия и активность тромбоцитов.

Цель работы: определение влияния прамирацетама на состояние эндотелиальной дисфункции в сосудах головного мозга и активность тромбоцитов у крыс с аллоксановым диабетом.

Материалы и методы

Исследования проведены на 52 белых крысах линии Вистар мужского пола, массой 250–300 г, которые содержались на стандартном рационе вивария и были разделены на 3 группы: I – интактные, $n=17$; II – животные с аллоксановым диабетом (АД, контроль), $n=18$; III – АД + прамирацетам в дозе 300 мг/кг, $n=17$. Экспериментальный диабет воспроизводили путем однократного подкожного введения аллоксана моногидрата в дозе 150 мг/кг, после предварительной 24-часовой депривации пищи (при сохраненном доступе к воде) [5].

Уровень глюкозы крови определяли на 11 сутки после введения аллоксана с помощью глюкометра Optium Omega (Abbot Diabetes Care Inc., США). Для дальнейших исследований использованы только животные с повышенным уровнем глюкозы (>11 ммоль/л).

Функциональное состояние эндотелия оценивали по уровню нитротирозина (НТЗ) и плотности eNOS-положительных клеток. Содержание НТЗ определяли в гомогенизированных в жидком азоте фрагментах мозга (область среднемозговой артерии) методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием

Таблица 1

Влияние праирацетама и прамирацетама на содержание нитротирозина, а также экспрессию eNO-синтазы в сосудах головного мозга аллоксан-диабетных крыс

стандартного тест-набора «Nitrotyrosine ELISA Kit» («HyCult biotechnology») в соответствии с приложенной инструкцией. Экспрессию эндотелиальной (eNOS) NO-синтазы определяли иммуногисто-химическим методом с использованием системы биопероксидазы и первичных поликлональных антител кролей против eNOS «KOH RN5» («Dako») [6].

Оценку влияния на способность тромбоцитов к агрегации проводили по методу G.V.Vorn на анализаторе агрегации тромбоцитов «SOLAR AP 2110», используя в качестве индукторов растворы коллагена 2 мг/мл (Технология-стандарт, Россия) и аденозиндифосфата (АДФ) 5 мкмоль/л (Ренам, Россия) [7]. Определяли степень и скорость агрегации за 30 сек.

Прамирацетам вводили внутривенно 1 раз в сутки на протяжении 20 дней, начиная с 11 дня после введения аллоксана и установления уровня гипергликемии. Животным I та II групп, в соответствующем объеме внутривенно вводили дистиллированную воду. На 30 сутки животных выводили из эксперимента путем декапитации.

Достоверность разницы средних арифметических (р) определяли с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

Все исследования проведены согласно Конвенции Совета Европы об охране позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях от 18.03.1986 г.

Результаты и их обсуждение

Результатами проведенных исследований установлено, что курсовое применение прамирацетама способствовало восстановлению функционального состояния эндотелия, нарушенного вследствие развития аллоксанового диабета (табл. 1). Так, при применении данного средства отмечалось значимое уменьшение на 57,7% (p<0,01) содержания НТЗ, по сравнению с II группой. При этом, в значительной степени наблюдалось и восстановление экспрессии eNOS, которая, в сопоставлении с группой контроля, возрастала в 2,5 раза (p<0,01).

Группа животных	Нитротирозин, нмоль/г белка	Плотность eNOS-положительных эндотелиоцитов
Интактные (n=10)	10,96±1,0	84,8± 9,7
АД (n=10)	55,13±5,54*	27,1±2,61*
Прамирацетам +АД (n=10)	19,18±1,24*	67,6±9,48*

Экспериментальная терапия прамирацетамом также характеризовалась и выраженными антиагрегантными свойствами (табл. 2). Так, степень и скорость коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов в данной группе в сопоставлении с группой контроля уменьшалась на 73,3% и 75,0% (p<0,05), а в АДФ (5 мкмоль/л)-индуцируемой – на 80,7% и 80,4% (p<0,05).

Следовательно, курсовое, на протяжении 20 дней, введение прамирацетама, животным с экспериментальным эквивалентом СД, определило его положительное влияние на функциональное состояние эндотелия и способность тромбоцитов к агрегации в условиях этой патологии. Исследуемое средство способствует повышению биодоступности оксида азота, уменьшает цитотоксичность NO и его дериватов – НТЗ, а также тормозит коллаген- и АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов.

Таким образом, снижение явлений эндотелиальной дисфункции в сосудах головного мозга при сахарном диабете, происходящее под влиянием прамирацетама, наряду с выраженными антиагрегантными свойствами, предупреждает или же замедляет развитие ангиопатий и, тем самым, вносит значительный вклад в улучшение мозгового кровообращения в условиях данной патологии.

Таблица 2

Показатели агрегатограмм при использовании индукторов агрегации – коллагена (2 мг/мл) и АДФ (5 и 20 мкмоль/л)

Группа животных	Степень агрегации			Скорость агрегации		
	Коллаген	АДФ-5	АДФ-20	Коллаген	АДФ-5	АДФ-20
Интактные (n=7)	53,8 ± 3,04	33,7±2,25	57,6 ± 4,40	13,0 ± 2,85	43,3 ± 5,22	44,4 ± 4,90
АД (n=8)	74,5 ± 3,03°	45,6 ± 3,45°	58,9 ± 5,55	37,9 ± 4,17°	56,5 ± 4,80°	54,8 ± 5,80
Прамирацетам +АД (n=7)	19,9 ± 4,78*	8,8 ± 1,44*	47,1 ± 3,06	9,5 ± 2,00*	11,1 ± 2,53*	36,0 ± 0,10

Примечание к таблицам 1 и 2:

* – p < 0,05 по отношению к контролю (АД);

° – p < 0,05 по отношению к показателям, зафиксированным в группе интактных животных.

Выводы

Курсовое применение прамирацетама крысам с аллоксановым диабетом способствует уменьшению явлений эндотелиальной дисфункции в сосудах головного мозга.

Прамирацетам на фоне хронической гипергликемии проявляет выраженные антиагрегантные свойства.

Полученные результаты могут служить предпосылками для дальнейшего изучения этого вопроса в клинике.

Литература

1. *Potenza M.A.* Endothelial dysfunction in diabetes: from mechanisms to therapeutic targets / M.A. Potenza, S. Gagliardi, C. Nacci [et al.] // *Curr.Med. Chem.* – 2009. – Vol. 16, №1. – P. 94-112.
2. *Hadi H.A.R.*, Endothelial dysfunction in diabetes mellitus/ H.A.R. Hadi, J.A. Suwaidi // *Vascular Health and Risk Management.* – 2007. – Vol. 3, №6. – P. 853 -876.
3. Рациональная нейропротекция. [И.Ф. Беленичев, В.И. Черный, Ю.М. Колесник и др.] — Донецк: Издатель Закарпатский А.Ю., 2009. — 262 с.
4. *Пашковская Н.В.* Особенности показателей эндотелиальной дисфункции у больных на диабетическую энцефалопатию в зависимости от стадии и типа основного заболевания / Н.В. Пашковская // *Вестник СумГУ. Серия Медицина.* – 2008. – № 1. – С. 97 – 103.
5. *Lenzen S.* The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes / Lenzen S. // *Diabetologia.* – 2008. – № 51. – С. 216–226.
6. *Ignarro L.G.* Endothelium-derived oxide: actions and properties / L.G. Ignarro // *FASEB.* – 1989. – №3. – P. 31-36.
7. *Born G.V.R.* Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal / G.V.R. Born // *Nature.* – 1962. – № 194. – P. 927-929.

Сведения об авторах:

Жилюк В.И., к.мед.н., старший преподаватель кафедры фармакологии, клинической фармакологии и фармакоэкономики ДГМА.

Мамчур В.И., д.мед.н. профессор, зав. кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и фармакоэкономики ДГМА.

Левых А.Э., очный аспирант кафедры фармакологии, клинической фармакологии и фармакоэкономики ДГМА.

Адрес для переписки:

49044, г. Днепропетровск, ул. Дзержинского, 9.

Тел.: (8056) 7135553; e-mail: zhylyuk@ua.fm; pharma@dsma.dp.ua