DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2019-23(3)-03

УДК: 615.216.617.5-616.831.600.325.6

ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЗА УМОВ ГЕМОРАГІЧНОГО ІНСУЛЬТУ НА ТЛІ ФАРМАКОТЕРАПІЇ АДЕМОЛОМ

Жабосдова Н.В., Ходаківський О.А.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

Відповідальний за листування:
e-mail: aleksey.hodakovskii@gmail.com

Статтю отримано 10 травня 2019 р.; прийнято до друку 19 червня 2019 р.

Анотація. У статті на моделі субарахноїдального крововиливу розкрито деякі біохімічні аспекти церебропротекторної дії промислового зразка ампульного 1,0 % розчину адемола, а саме його вплив на показники вуглеводного та енергетичного обміну, стан антиоксидантних систем, активність процесів ліпопероксидації, а також функціонування системи L-аргінін/NO у мозку щурів, як можливі метаболітотропні складові його захисного ефекту на нейрони головного мозку. Субарахноїдальний крововилив важкого ступеня важкості створювали в умовах пропофолового наркозу ін'єкцією гепаринізованої аутокрові (об'ємом 0,1 мл/кг) через катетер, розташований у субарахноїдальному просторі. Використовували параметричний критерій *t* Ст'юдента, непараметричний критерій *W*. Уайта, парний критерій *T* Вілкоксона - для визначення значущих змін у динаміці всередині групи. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Встановлено, що адемола здатен ліквідувати енергодефіцит мозку (збільшувати в мозку вміст аденозинтрифосфатної кислоти та пірувату при одночасному підвищенні енергетичного заряду відносно зразків контрольної патології в середньому відповідно на 45,1, 42,9 та 22,0 %, $p < 0,05$); зменшувати лактат-ацидоз (знижувати вміст лактату на 31,9 %, $p < 0,05$), ліквідувати прояви оксидативного стресу (зменшувати рівень малонового діальдегіду та карбонільних груп протеїнів у середньому на 30,5 та 18,8 %, на тлі зростання активності супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази і каталази відповідно на 42,1, 25,2 та 37,6 %, $p < 0,05$), модулювати обмін монооксиду азоту (підвищувати активність NO-синтази при одночасному збільшенні вмісту донатора NO L-аргініну в середньому відповідно на 14,0 та 44,0 %, $p < 0,05$). За зазначеними властивостями адемола вірогідно перевершував ефективність розчинів амантадину та магнію сульфату. У подальшому доцільно охарактеризувати вплив адемола на морфологічний стан кори головного мозку.

Ключові слова: адемола, інсульт, субарахноїдальний крововилив, нейропротекція.

Вступ

Головний мозок як невід'ємна морфо-функціональна складова ЦНС, являє собою її провідну мішень, а закономірні нейросудинні зміни корелюють із високим ступенем інвалідації та показником летальності пацієнтів із геморагічним інсультом, переважна більшість котрих представлена працездатним населенням [4-7]. Наявний феномен глутаматної ексайтотоксичності, опосередкований надмірною патологічною гіперактивацією NMDA-рецепторів, редукція інтранейронального енергозабезпечення, дисбаланс у оксидантно-антиоксидантній рівновазі, регуляції кислотно-лужного балансу та обміну монооксиду азоту, стероїдна нейротоксичність, нейроцитоліз та апоптоз - обов'язкові ланки каскаду, являють собою перспективний вектор, у напрямку якого доцільно здійснювати фармакологічну розробку первинної нейропротекторної терапії [1, 3, 5]. При доклінічній оцінці протективних властивостей адемола (промисловий зразок) з'ясовано, що біохімічні складові механізму його захисної дії на нейрони при ішемічному інсульті, гіпоксичних станах різного ґенезу, черепно-мозковій травмі та перехідній ішемії зорового аналізатора, пов'язані із притаманним для похідного адамантану модульовальним впливом на порушений внутрішньоклітинний гомеостаз метаболічного характеру (енергетичний, вуглеводний, оксидантно-антиоксидантний баланс, обмін монооксиду азоту, нітрозативний стрес, ацидотичний стан) та деструктивні процеси, такі як нейроапоптоз, некробіоз, ней-

ропроліферація. Так, введення дослідним тваринам (щурі, кролі) із моделями перерахованих патологічних станів 1,0% розчину адемола дозою 2 мг/кг, достовірно краще відносно тварин контрольної патології, сприяло відновленню енергетичного метаболізму і стабілізувало порушені показники обміну NO, надійніше профілакувало розвиток оксидативного стресу та перешкоджало морфо-дегенеративним явищам в нейронах, одночасно забезпечуючи формування феномену нейрореставрації. За цими властивостями адемола перевершував такі референсні препарати, як цитиколін, мексидол, пірацетам, актовегін, нейропептиди (церебралізін, кортексин) та структурно подібні адамантани ($p < 0,05$) [1, 2]. Наведені аналітичні дані щодо притаманної адемола метаболототропної активності в умовах ішемічно-гіпоксичного ураження нервової тканини, дають підґрунтя та роблять доцільним вивчення аналогічних ефектів у цього препарату і при субарахноїдальному крововиливі (САК).

Мета - з'ясувати внутрішньоклітинні метаболітотропні механізми, що забезпечують нейропротекторну активність адемола за маркерами енергетичного, вуглеводного, оксидантно-антиоксидантного балансу та обміну монооксиду азоту в головному мозку щурів на тлі геморагічного інсульту на моделі САК.

Матеріали та методи

Дослідження проведені на білих нелінійних щурах-

самцях. Під час роботи з лабораторними тваринами дотримані методичні рекомендації Державного фармакологічного центру МОЗ України і вимоги біоетики згідно до "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", затверджених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986), директив Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 "Про захист тварин від жорстокого поводження". Дотримання етичних норм засвідчено комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету (ВНМУ) ім. М.І. Пирогова.

САК важкого ступеня важкості створювали в умовах пропофолового наркозу ін'єкцією гепаринізованої аутокрові (об'ємом 0,1 мл/кг) через катетер, розташований у субарахноїдальному просторі головного мозку тварин (стереотаксичні координати проекції місця ін'єкції: Н=7,0 мм, L=3,0 мм, А=1,5 мм від брегми). Катетер вводили в трепанаційний отвір черепа, зроблений за кістково-пластичною методикою.

Промисловий зразок адемоу, вводили з розрахунку 2 мг/кг внутрішньовенно (в/в). За даними наших попередніх досліджень використання адемоу в такій дозі повною мірою забезпечувало реалізацію його нейропротективної активності при ішемічно-гіпоксичних ураженнях ЦНС не геморагічної природи, що проявлялось зростанням показника виживаності тварин та поліпшувало їх неврологічний статус [1]. В якості референс-препаратів було обрано німодипін дозою 30 мг/кг (в/в), "Німотоп" Bayer Pharma, Німеччина, розчин амантадину сульфату ("ПК-мерц", Мерц Фарма, Німеччина), 10 мг/кг в/в та розчин магнію сульфату ("Магнію сульфат-Дарниця", Фармацевтична фірма Дарниця, Україна), 250 мг/кг в/в. Псевдооперовані тварини без модельного інсульту, як і щури контрольної групи із САК, отримували фізіологічний розчин хлориду натрію дозою 2 мл/кг. Усі препарати вводили у попередньо катетеризовану стегнову вену (катетер "УНОФЛОН" 22 G, Індія).

Динаміку біохімічних маркерів у головному мозку щурів виявляли в кінці гострого та відновного періодів САК (4-та та 21-ша доба після моделювання патології) за методиками, загальний опис та посилання на які наведено у монографії І.С. Чекман з співавт. (2015) [3]. Так, стан вуглеводного та енергетичного обмінів оцінювали за вмістом у головному мозку відповідно аденозинтрифосфору, аденозиндифосфору та аденозинмонофосфору кислоти (АТФ АДФ та АМФ), лактату, пірувату і малату; процес вільнорадикального окиснення характеризували за рівнем малонового діальдегіду (МДА) та карбонільних груп протеїнів (КГП). Стан антиоксидантної системи верифікували за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатіонпероксидази (ГПР). Баланс у системі монооксиду азоту (NO) описували шляхом визначення сумарної активності NO-син-

таз та рівня L-аргініну.

Отримані цифрові матеріали статистично оцінювали у програмі StatPlus 2009. Використовували параметричний критерій t Ст'юдента, непараметричний критерій W. Уайта, парний критерій T Вілкоксона - для визначення значущих змін у динаміці всередині групи. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати. Обговорення

Дослідження метаболізму аденілових нуклеотидів за умов геморагічного інсульту (табл. 1) показало, що станом на 4-ту добу експерименту у головному мозку щурів групи контрольної патології порівняно з псевдооперованими тваринами вірогідно знижувались запаси АТФ в середньому на 63,8 % і зростав вміст АДФ та АМФ (їх рівень підвищився відповідно у 2,27 та 1,7 рази). За цих умов реєстрували статистично достовірне падіння енергетичного заряду клітин головного мозку в середньому на 34,6 %, що свідчить про зниження енергетичного потенціалу та розвиток гіпоенергетичного стану. Ймовірно, описані зміни є наслідком пригнічення процесу окисного фосфорилування та зниження ступеня його супряження з тканинним диханням.

На 21-шу добу експерименту (відновний період САК), відмічали зменшення пертурбацій у метаболізмі аденілових нуклеотидів.

Так, зниження вмісту АТФ та енергетичного заряду становило відповідно 43,1 та 23,9%, а рівні АДФ та АМФ підвищились відповідно у 2,1 та 1,6 рази, при чому рівень цих показників все ще достовірно відрізнявся від таких у псевдооперованих щурів.

Терапія експериментального САК досліджуваними препаратами достовірно зменшувало масштабність порушень обміну аденілових нуклеотидів, індукованих геморагічним інсультом, що супроводжувалось збільшенням енергетичного потенціалу головного мозку, особливо на 21-шу добу після початку лікування (табл. 1). Так, після застосування найбільш ефективних із них: німодипіну, адемоу та амантадину сульфату упродовж 4-х діб, відмічали збільшення вмісту АТФ (в середньому на 41,2, 45,1 та 21,6 % відповідно), енергетичного заряду (в середньому на 20,9, 21,9 та 10,9 % відповідно), зменшення рівня АДФ (в середньому на 35,5, 38,0 та 24,2 % відповідно) і АМФ (в середньому на 26,9, 25,3 та 13,9 % відповідно), порівняно із тваринами групи контрольної патології. У цей же час, аналогічна за дизайном терапія САК розчином магнію сульфатом, не викликала достовірних змін.

Ще більшою мірою (при $p < 0,05$), сприяло відновленню балансу в обміні аденілових нуклеотидів у тканинах головного мозку застосування досліджуваних речовин упродовж 21-ї доби САК. При цьому, найбільш виразна дія реєструвалась у адемоу та німодипіну, достовірно менша - у амантадину сульфату, а найменша - у магнію сульфату.

За умов геморагічного ураження мозку у ньому вияв-

Таблиця 1. Динаміка впливу адемоу на вміст аденілових нуклеотидів у мозку щурів на тлі субарахноїдального крововиливу ($M \pm m$, $n=15$).

Групи тварин	Термін експерименту (доба)	Показники			
		АТФ, мкмоль / г сухої тканини	АДФ, мкмоль / г сухої тканини	АМФ, мкмоль / г сухої тканини	Енергетичний заряд
Псевдооперовані	4	2,82±0,12	0,853±0,02	0,600±0,031	0,759±0,006
	21	2,90±0,14	0,850±0,029	0,578±0,048	0,769±0,007
Контрольна група	4	1,02±0,10 [^]	1,95±0,05 [^]	1,02±0,05 [^]	0,496±0,009 [^]
	21	1,65±0,09 [^]	1,78±0,09 [^]	0,912±0,060 [^]	0,585±0,006 [^]
САК + адемоу, 2 мг/кг	4	1,48±0,07 ^{^*#}	1,21±0,09 ^{^*#}	0,762±0,041 ^{^*#}	0,605±0,005 ^{^*#}
	21	2,72±0,14 ^{^*#}	0,936±0,075 ^{^*#}	0,602±0,039 ^{^*#}	0,751±0,008 ^{^*#}
САК + німодипін, 30 мкг/кг	4	1,44±0,08 ^{^*}	1,26 ±0,08 ^{^*}	0,746±0,034 ^{^*}	0,600±0,008 ^{^*}
	21	2,78±0,13 [*]	0,910±0,072 [*]	0,591±0,048 [*]	0,759±0,007 [*]
САК + амантадину сульфат, 10 мг/кг	4	1,24±0,05 ^{^*}	1,48±0,06 ^{^*}	0,878±0,033 ^{^*}	0,553±0,005 ^{^*}
	21	2,31±0,10 ^{^*}	1,18±0,08 ^{^*}	0,701±0,020 ^{^*}	0,692±0,004 ^{^*}
САК + магнію сульфат, 250 мг/кг	4	1,12±0,09 [^]	1,72±0,10 [^]	0,940±0,043 [^]	0,520±0,008 ^{^*}
	21	1,95±0,08 ^{^*}	1,50±0,06 ^{^*}	0,770±0,019 ^{^*}	0,639±0,004 ^{^*}

Примітки (тут і надалі): САК - субарахноїдальний крововилив; АТФ АДФ та АМФ -аденозинтрифосфорна, аденозиндифосфорна та аденозинмонофосфорна кислота; [^] - $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин; ^{*} - $p < 0,05$ відносно контрольної патології; [#] - $p < 0,05$ у відповідні строки між адемоу та сульфатом магнію; ^{*} - $p < 0,05$ у відповідні строки між адемоу та амантадином; ^a - $p < 0,05$ у відповідні строки між адемоу та німодипіном.

Таблиця 2. Динаміка впливу адемоу на вміст метаболітів глюкози у мозку щурів на тлі субарахноїдального крововиливу ($M \pm m$, $n=15$).

Групи тварин	Термін експерименту, (доба)	Показники		
		Лактат, мкмоль / г сухої тканини	Піруват, мкмоль / г сухої тканини	Лактат / Піруват
Псевдооперовані	4	1,66±0,02	0,300±0,017	5,76±0,29
	21	1,60±0,03	0,294±0,019	5,73±0,33
Контрольна група	4	7,19±0,11 [^]	0,119±0,008 [^]	65,4±5,70 [^]
	21	6,02±0,14 [^]	0,144±0,011 [^]	44,9±3,40 [^]
САК + адемоу, 2 мг/кг	4	4,90±0,16 ^{^*}	0,170±0,013 [*]	30,4±1,78 [?]
	21	3,13±0,21 ^{^*}	0,275±0,013 [*]	11,3±0,51 ^{^*}
САК + німодипін, 30 мкг/кг	4	4,42±0,13 ^{^*#a}	0,183±0,014 ^{^*#}	26,2±2,08 ^{^*#a}
	21	2,56±0,15 ^{^*#a}	0,285±0,012 ^{^*#}	8,96±0,30 ^{^*#a}
САК + амантадину сульфат, 10 мг/кг	4	5,40±0,15 ^{^*}	0,132±0,012 ^{^*}	45,5±4,14 ^{^*}
	21	3,73±0,19 ^{^*}	0,234±0,017 ^{^*}	16,3±0,74 ^{^*}
САК + магнію сульфат, 2500 мг/кг	4	6,74±0,19 [^]	0,116±0,007 [^]	61,0±3,72 [^]
	21	5,13±0,23 ^{^*}	0,170±0,013 [^]	31,8±1,79 ^{^*}

лено зміни у співвідношенні процесів аеробного та анаеробного розщеплення глюкози (табл. 2): зареєстровано статистично вірогідне падіння вмісту пірувату (в середньому на 60,3 та 51,0 %, відповідно на 4-ту і 21-шу добу експерименту), збільшення вмісту лактату (в середньому у 4,33 та 3,76 рази відповідно на 4-ту і 21-шу добу експерименту) та співвідношення лактат / піруват (в середньому у 11,3 та 7,8 рази відповідно на 4-ту і 21-шу добу експерименту). Тобто, за умов геморагічного інсульту зменшується активність аеробного гліколізу та

активується анаеробний шлях метаболізму глюкози, що супроводжується розвитком лактатацидозу в клітинах головного мозку.

Курсове застосування досліджуваних нейропротекторів при САК (крім магнію сульфату) упродовж гострого періоду інсульту (4-х діб) викликало збільшення активності аеробного шляху окиснення глюкози в мозку щурів, про що доказово свідчило збільшення вмісту пірувату, зниження рівня лактату та співвідношення лактат / піруват, порівняно із відповідними показниками у тварин

Таблиця 3. Динаміка впливу адемоу на вміст продуктів пероксидації ліпідів та протеїнів у мозку щурів за умов субарахноїдального крововиливу в різні терміни експерименту (М±m, n=15).

Групи тварин	Термін експерименту (доба)	Показники	
		МДА, мкмоль / г сухої тканини	КГП, нмоль / мг протеїну
Контрольна група	4	12,4±0,54	4,41±0,14
	21	12,0±0,64	4,30±0,13
САК + 0,9% NaCl, 2 мл/кг	4	30,5±0,60 [^]	7,54±0,18 [^]
	21	26,6±0,50 [^]	6,78±0,17 [^]
САК + адемоу, 2 мг/кг	4	21,2±0,34 ^{^*}	6,12±0,19 ^{^*}
	21	15,0±0,45 ^{^*}	4,75±0,14 ^{^*}
САК + німодипін, 30 мкг/кг	4	19,5±0,39 ^{^*#a}	5,55±0,16 ^{^*#a}
	21	13,4±0,46 ^{^*#a}	4,38±0,09 ^{^*#a}
САК + амантадину сульфат, 10 мг/кг	4	24,5±0,44 ^{^*}	6,49±0,23 ^{^*}
	21	16,6±0,53 ^{^*}	5,24±0,16 [*]
САК + магнію сульфат, 2500 мг/кг	4	28,5±0,58 ^{^*}	7,01±0,24 [^]
	21	19,5±0,60 ^{^*}	5,96±0,21 ^{^*}

Примітка: МДА - малоновий диальдегід, КГП - карбонільні групи протеїнів.

групи контрольної патології (табл. 2). За цих умов адемоу, і, меншою мірою німодипін, мали найбільш потужний вплив на метаболізм глюкози. Натомість, 21-но денна фармакотерапія САК, проти попереднього строку (4-та доба), закономірно до динаміки макроергів виявляла достеменно ліпшу коригувальну дію на порушений метаболізм глюкози. Так, введення німодипіну, адемоу, амантадину сульфату та магнію сульфату викликало вірогідне збільшення вмісту пірувату відповідно на 91,0, 97,9, 62,4 та 18,1 %, зниження рівня лактату - на 48,0, 57,4, 38,0 та 14,8 %, а також зменшення співвідношення лактат / піруват - 74,7, 80,0, 63,7 та 29,3 %, порівняно із значеннями у тварин групи контрольної патології.

Таким чином, у ході проведеного динамічного дослідження впливу адемоу на енергетичний метаболізм у мозку щурів в гострий та відновний періоди САК встановлено, що біохімічні складові механізму його церебропротекторної дії в цих умовах асоційовано із відновленням енергопостачання останнього (збільшення вмісту АТФ, малату та пірувату) на тлі паралельного зменшення вмісту лактату. Ця ланка у фармакодинамічному аспекті захисної дії адемоу на ішемізований мозок є вкрай важливою, оскільки в аноксичних або ж гіпоксичних умовах, енергетичний потенціал нейронів швидко виснажується, а єдиним енергетичним субстратом при цьому виступає лише глюкоза. За спроможністю адамантану відновлювати енергетичний обмін у гострий та відновний періоди САК доцільно побудувати наступний варіаційний ряд в порядку наростання енергодефіциту за рівнем субстратів, які афілійовані з цим явищем, що віддзеркалює величину нейропротекторної активності.

Чим лівіше (ближче до групи псевдооперованих щурів) розташовується препарат, тим вищий у нього енергетичний потенціал: псевдооперовані щури > адемоу > німодипін > амантадину сульфат > магнію сульфат > контрольна патологія.

Відновлення енергетичного балансу в умовах САК на тлі адемоу добре зіставляється із зменшенням енолазної активності, яка віддзеркалює нейроцитоліз (нейронекроз). Справа в тому, що апоптоз, на відміну некрозу - це енергоємний, а значить залежний від наявного пулу АТФ процес. Коли рівень останнього зменшується, ініціація апоптотичних програм стає неможливою, а нейрон, маючи необоротні ультраструктурні пошкодження, гине виключно некротичним шляхом, що, з точки зору єдності цитоморфологічної організації ЦНС, є вкрай несприятливим. Відновлення запасів АТФ сприяє трансформації некротичного на апоптотичний тип, що і проявляється деескалацією активності енолази. Паралельно, нами встановлено, що адемоу сприяє пригніченню і апоптотичних механізмів. Отже, досліджуваний препарат, більшою мірою завдяки нормалізації вуглеводного і енергетичного обміну, забезпечує цілісність та єдність структурної організації нейронів мозку в умовах САК.

Оцінка оксидативного статусу нейронів головного мозку в умовах САК на тлі терапії адемоу за традиційними маркерними величинами цього процесу є вкрай важливою для кращого розуміння внутрішньоклітинних метаболіто-тропних механізмів його церебропротекторної активності. Справедливість такої тези стає очевидною, якщо зважити на той факт, що продукти ліпопероксидації та окисної модифікації білків, рівною мірою є тригерними факторами для індукції як апоптозу, так і некробіозу. Отож, антиоксидантна дія адемоу може лежати в основі його захисного впливу на головний мозок. З'ясуванню цього фармакодинамічного аспекту препарату було присвячено наступне дослідження (табл. 3).

Геморагічний інсульт у щурів супроводжувався активацією в мозку процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів.

Станом на 4-ту та 21-шу добу після модулювання геморагічного інсульту відмічали статистично вірогідне зростання вмісту МДА відповідно в 2,5 та 2,2 рази, а також КГП в середньому на 71,0 та 57,7 %, порівняно з аналогічними показниками у групі псевдооперованих тварин.

Застосування досліджуваних препаратів упродовж 4-х діб достовірно відносно групи контрольної патології, зменшувало вміст досліджуваних маркерів оксидативного стресу (окрім магнію сульфату), причому максимальний ефект відмічався на тлі введення адемоу. В той же час, за умов тривалого (21-на доба САК) введення німодипіну, адемоу, амантадину та магнію сульфату відмічалось більш виразне пригнічення процесів пероксидації ліпідів та білків: зниження вмісту МДА становило відповідно 43,8, 49,6, 37,6 та 26,7 %, а рівня КГП - 30,0, 35,4, 22,8 та 12,1 %, порівняно з контрольною патологією.

Таблиця 4. Активність антиоксидантних ензимів в мозку щурів у динаміці геморагічного інсульту на тлі терапії адемолом та препаратами порівняння ($M \pm m$, $n=15$).

Групи тварин	Термін експерименту (доба)	Показники		
		ГПО, мкмоль / хв на 1 мг протеїну	СОД, ум.од / мг протеїну	Каталаза, мккатал / мг протеїну
Псевдооперовані	4	67,2 $\pm$ 2,37	2,35 $\pm$ 0,12	6,15 $\pm$ 0,17
	21	68,4 $\pm$ 2,68	2,42 $\pm$ 0,11	6,27 $\pm$ 0,19
Контрольна група	4	28,6 $\pm$ 2,04 [^]	0,95 $\pm$ 0,08 [^]	2,42 $\pm$ 0,15 [^]
	21	40,2 $\pm$ 2,25 [^]	1,38 $\pm$ 0,13 [^]	3,50 $\pm$ 0,18 [^]
САК + адемолом, 2 мг/кг	4	35,8 $\pm$ 2,05 ^{^*}	1,35 $\pm$ 0,11 ^{^*}	3,33 $\pm$ 0,16 ^{^*}
	21	56,5 $\pm$ 2,10 [*]	2,28 $\pm$ 0,10 [*]	5,91 $\pm$ 0,29 [*]
САК + німодипін, 30 мг/кг	4	37,5 $\pm$ 2,03 ^{^*#}	1,40 $\pm$ 0,13 ^{^*#}	3,46 $\pm$ 0,14 ^{^*#}
	21	61,4 $\pm$ 2,29 ^{^*#}	2,34 $\pm$ 0,14 ^{^*#}	6,15 $\pm$ 0,25 ^{^*#}
САК + амантадину сульфат, 10 мг/кг	4	32,4 $\pm$ 1,80 [^]	1,20 $\pm$ 0,14 [^]	2,95 $\pm$ 0,17 ^{^*}
	21	50,0 $\pm$ 1,82 ^{^*}	1,99 $\pm$ 0,09 ^{^*}	5,12 $\pm$ 0,22 ^{^*}
САК + магнію сульфат, 250 мг/кг	4	29,8 $\pm$ 1,82 [^]	1,03 $\pm$ 0,10 [^]	2,64 $\pm$ 0,12 [^]
	21	43,1 $\pm$ 1,12 [^]	1,54 $\pm$ 0,11 [^]	4,28 $\pm$ 0,24 ^{^*}

Примітка. ГПО - глутатіонпероксидаза; СОД - супероксиддисмутаза.

гією. Тобто, найбільший депримуєчий вплив на активність процесів ліпопероксидації та окисної модифікації протеїнів мав адемолом, достовірно менший - німодипін, їм поступався амантадину сульфат, а найменший реєструвався у магnezії.

Однією із причин активації вільнорадикального окиснення ліпідів та білків є дисбаланс в про- та антиоксидантних системах. Тому, ми оцінили вплив геморагічного ураження головного мозку на активність антиоксидантних ензимів - СОД, ГПО та каталази в тканинах головного мозку, а також їх зміни на тлі терапії (табл. 4). За умов геморагічного інсульту у тварин групи контрольної патології відмічали достовірне падіння активності СОД (в середньому на 59,6 і 43,0 % відповідно на 4-ту та 21-шу добу експерименту), порівняно з псевдооперованими тваринами, що супроводжувалось накопиченням цитотоксичного супероксидного аніон-радикалу. Поряд із цим зареєстровано зменшення здатності тканин головного мозку знешкоджувати гідроген пероксид в ензиматичних реакціях, каталізованих ГПО (її активність знизилась в середньому на 57,4 і 41,2 % відповідно на 4-ту та 21-шу добу експерименту) та каталазою (активність цього ензиму у гострий період САК виявилась нижчою за аналогічні значення у тварин групи контрольної патології в середньому на 60,6 і 44,2 % відповідно).

Терапія досліджуваними препаратами зменшувало депримуєчий вплив геморагічного ураження головного мозку на активність антиоксидантних ензимів (табл. 4). Зокрема, на 4-ту добу після їх окремого введення тваринам із САК, достовірно зменшення активності СОД та ГПО реєструвалось лише в групі тварин, які отримували німодипін та адемолом, тоді як вірогідне зниження активності каталази виявлялось у всіх групах лікованих тва-

рин, за винятком тих, які отримували розчин магнію сульфату. Більшою мірою антиоксидантний потенціал клітин головного мозку зростав на тлі застосування препаратів упродовж 21-ї доби САК Так, введення німодипіну, адемолу та амантадину сульфату супроводжувалось збільшенням порівняно із тотожними показниками у щурів групи контрольної патології активності ГПО в середньому відповідно на 40,5, 52,7 і 17,9 %, СОД - на 65,2, 69,6 та 37,1 %, а також каталази відповідно на 68,9, 75,7 та 42,6 %, При цьому, тривале 21-но денне введення магнію сульфату достовірно не впливало на активність ГПО та СОД, і вірогідно (в середньому на 22,4 %) зменшувало активність каталази. Отже, адемолом та німодипін найбільшою мірою зменшували негативний вплив ішеміко-гіпоксичного чинника в умовах геморагічного інсульту на стан ензимних систем інактивації активних форм кисню. В амантадину сульфату вказаний ефект порівняно з попередніми препаратами проявився достовірно меншою мірою, проте у магnezії така дія була майже відсутньою взагалі.

Встановлено, що за умов модельного геморагічного інсульту в структурах головного мозку щурів формувалась дисбаланс у системі L-аргінін / NO (табл. 5). Зокрема, станом на 4-ту добу експерименту вміст в нейронах амінокислоти аргініну знизився відносно псевдооперованих тварин в середньому на 68,9 %, а сумарна активність NO-синтази зростала відповідно на 57,6 %. У той же час, станом на 21-шу добу експерименту зменшення пулу L-аргініну становило в середньому 50,2 %, а підвищення активності NO-синтази було в межах 46,1 %, що виявилось достовірно меншим проти гострого періоду. Можна зробити висновок, що виснаження запасів аргініну відбувається за рахунок активації NO-синтази, для якої ця амінокислота є субстратом.

Таблиця 5. Вплив терапії адемолом та препаратами порівняння на стан системи L-аргінін / NO в мозку щурів за умов геморагічного інсульту ($M \pm m$, $n=15$).

Групи тварин	Термін експерименту (доба)	Показники	
		МДА, мкмоль / г сухої тканини	КГП, нмоль / мг протеїну
Псевдооперовані	4	61,5 $\pm$ 1,25	118 $\pm$ 2,88
	21	60,4 $\pm$ 1,32	115 $\pm$ 3,09
Контрольна група	4	19,1 $\pm$ 1,10 [^]	186 $\pm$ 4,01 [^]
	21	30,1 $\pm$ 1,11 [^]	168 $\pm$ 4,07 [^]
САК + адемолом, 2 мг/кг	4	27,5 $\pm$ 1,08 ^{^*}	160 $\pm$ 3,01 ^{^*}
	21	50,4 $\pm$ 1,25 ^{^*}	133 $\pm$ 3,24 ^{^*}
САК + німодипін, 30 мг/кг	4	31,1 $\pm$ 1,14 ^{^*#}	148 $\pm$ 2,98 ^{^*#}
	21	56,2 $\pm$ 1,19 ^{^*#}	122 $\pm$ 3,17 ^{^*#}
САК + амантадин у сульфат, 10 мг/кг	4	23,6 $\pm$ 1,03 ^{^*}	171 $\pm$ 3,28 ^{^*}
	21	44,6 $\pm$ 1,20 ^{^*}	146 $\pm$ 3,85 ^{^*}
САК + магнію сульфат, 2500 мг/кг	4	20,5 $\pm$ 1,18 [^]	178 $\pm$ 3,41 [^]
	21	32,5 $\pm$ 1,30 [^]	160 $\pm$ 3,44 [^]

У свою чергу, певною мірою, наростання активності NO-синтази, можна пояснити активуючим впливом факторів запалення на експресію відповідних генів, що особливо має місце у відновний період.

Пропонована терапія геморагічного інсульту зменшувала дисбаланс в NO-продукуючій системі, за виключенням єдиного препарату - магнію сульфату, який достовірно не впливав на рівень L-аргініну та активність NO-синтази (табл. 5).

При використанні препаратів упродовж перших 4-х діб САК інтрацеребральний вміст L-аргініну вірогідно зростав, тоді як активність NO-синтази зменшувалась. Причому достеменно деескалація відбувалась лише на тлі застосування адемолу та німодипіну. Натомість, тривале застосування досліджуваних препаратів упродовж 21-ї доби інсульту, чинило статистичний депримуєчий вплив на сумарну активність NO-синтази та викликало достовірне підвищення запасів L-аргініну. Так, максимальну здатність зменшувати дисбаланс в системі L-аргінін / NO було зафіксовано у адемолу (викликав збільшення вмісту аргініну та зменшення активності NO-синтази порівняно з контрольною патологією в середньому відповідно на 86,7 та 27,4 %,). Відносно тварин групи контрольної патології німодипін показав достовірно менший ефект, оскільки на тлі його введення в організм тварин із САК зміна титрів та активності вказаних показників була в межах 67,4 та 20,8 %. Останньому поступався амантадин сульфат, який викликав збільшення вмісту аргініну в середньому на 41,0 %, а зниження активності NO-синтази відповідно на 11,0 %. За цих умов найменшу здатність коригувати зміни в системі синтезу нітроген монооксиду виявляв розчин магнію сульфату.

Таким чином геморагічний інсульт супроводжувався

вираженими пертурбаціями обмінних процесів у головному мозку щурів. За цих умов в тканинах мозку реєстрували пригнічення аеробного окиснення глюкози, посилення анаеробного гліколізу та розвиток лактатацидозу (доказом чого було зменшення вмісту пірувату та зростання рівня лактату й співвідношення лактат / піруват). Поряд з цим в тканинах головного мозку розвивався гіпоенергетичний стан (зменшувався енергетичний заряд клітин), знижувались запаси макроергічних сполук (АТФ), пригнічувався процес окисного фосфорилування (зростав вміст АДФ, АМФ та виникав дефіцит АТФ) та зменшувалась ступінь його супряження з тканинним диханням. Ураження клітин головного мозку за цих умов асоціювалось з розвитком дисбалансу в про- та антиоксидантних системах (зменшувалась активність супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази та каталази), що супроводжувалось активацією процесів вільнорадикального окиснення ліпідів (зростав вміст малонового діальдегіду - вторинного продукту ліпопероксидації) та окисної деградації білків (збільшувався рівень карбонільних груп протеїнів). Поряд з цим розвивався дисбаланс в системі L-аргінін / NO, а саме виникав дефіцит амінокислоти аргініну в клітинах мозку та збільшувалась продукція нітроген монооксиду за участі NO-синтази.

Таким чином, використання досліджуваних препаратів показало їх здатність достовірно зменшувати метаболічні розлади, індуковані геморагічним інсультом. Доведено, що нейропротекторна активність адемолу, певною мірою, пов'язана із його антиоксидантною дією, здатністю посилювати енергетичний обмін, покращувати супряження процесів тканинного дихання та окисного фосфорилування, активувати процеси аеробного окиснення глюкози, зменшувати лактатацидоз, відновлювати баланс у системі продукції нітроген монооксиду. За цими ефектами адемолом за деякими показниками є зіставним з німодипіном, перевершуючи решту препаратів порівняння.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. На прикладі гострого періоду субарахноїдального крововиливу встановлено, що адемолом здатен ліквідувати енергодефіцит мозку (збільшувати в мозку вміст аденозинтрифосфатної кислоти та пірувату при одночасному підвищенні енергетичного заряду відносно зразків контрольної патології в середньому відповідно на 45,1, 42,9 та 22,0 %, $p<0,05$); зменшувати лактат-ацидоз (знижувати вміст лактату на 31,9 %, $p<0,05$), ліквідувати прояви оксидативного стресу (зменшувати рівень малонового діальдегіду та карбонільних груп протеїнів в середньому на 30,5 та 18,8 %, на тлі зростання активності супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази і каталази відповідно на 42,1, 25,2 та 37,6 %, $p<0,05$), модулювати обмін монооксиду азоту (підвищувати активність NO-синтази при одночасному збільшенні вмісту донатора NO L-аргініну в середньому відповідно на 14,0 та

44,0 %, $p < 0,05$).

2. За зазначеними властивостями адемом вірогідно перевершував ефективність розчинів амантадину та магнію сульфату.

У подальшому доцільно охарактеризувати вплив

адемому на морфологічний стан кори головного мозку щурів при субарахноїдальному крововиливі за даними світлової мікроскопії та протоково-цитометричного аналізу. Останній дозволить оцінити рівень нейроапоптозу в умовах експериментального геморагічного інсульту.

Список посилань

1. Степанюк, Г. І., Мороз, В. М., & Ходіківський, О. А. (2018). *Адемом: новий підхід до церебропротекції*. Вінниця: ТОВ "Нілан-ЛТД".
2. Ходаківський, О. А., Жабоедова, Н. В., & Рокунець, І. Л. (2016). Порівняльна оцінка впливу Адемому та німодипіну на церебральну гемодинаміку в корі головного мозку. *Світ медицини та біології*, 3 (57), 150-153.
3. Чекман, І. С., Губський, Ю. І., & Беленичев, І. Ф. (2015). Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов, Київ: Інститут фармакології та токсикології МОЗ України.
4. Han, J., Yang, F., Jiang, W., Zhang, G., Liu, Z., Liu, X., & Zhao, G. (2016). Hydroxyethyl starch 130/0.4 and sodium chloride injection as adjunctive therapy in patients with cerebral hyperperfusion. *BMC Neurology*, 12, 127-135. doi:10.1186/1471-2377-12-127.
5. Lehmann, L., Bendel, S., Uehlinger, D.E., Takala, J., Schafer, M., Reinert, M., & Jakob, S. M. (2015). Randomized, double-blind trial of the effect of fluid composition on electrolyte, acid base, and fluid homeostasis in patients early after subarachnoid hemorrhage. *Neurocritical Care*, 18 (1), 5-12. doi: 10.1007/s12028-012-9764-3.
6. Li, C. Y., Karmarkar, A., Adhikari, D., Ottenbacher, K., & Kuo, Y. F. (2018). Effects of Age and Sex on Hospital Readmission in Traumatic Brain Injury. *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 99 (7), 1279-1288.e1. doi: 10.1016/j.apmr.2017.12.006.
7. Oddo, M., Poole, D., Helbok, R., Meyfroidt, G., Stocchetti, N., Bouzat, P. & Citerio, G. (2018). Fluid therapy in neurointensive care patients: ESICM consensus and clinical practice recommendations. *Intensive Care Medicine*, 44 (4), 449-463. doi: 10.1007/s00134-018-5086-z.
- Ademol: novyy pidkhid do tserebroproteksiyyi [Ademol: a new approach to cerebroprotection]. Vinnytsya: TOV "Nilan-LTD".
2. Khodakivs'kyi, O. A., Zhaboyedova, N. V., & Rokunets', I. L. (2016). Porivnyal'na otsinka vplyvu Ademolu ta nimodypinu na tserebral'nu hemodynamiku v kori holovnoho mozku [Comparative assessment of the effects of Ademol and nimodipine on cerebral hemodynamics in the cerebral cortex]. *Svit medytyny ta biolohiyi - World of Medicine and Biology*, 3 (57), 150-153.
3. Chekman, I. S., Gubskiy, YU. I., & Belenichev, I. F. (2015). Doklinicheskoye izucheniye spetsificheskoy aktivnosti potentsial'nykh neyroprotektivnykh preparatov [Preclinical study of the specific activity of potential neuroprotective drugs]. Kiiv: Institut farmakologii ta toksikologii MOZ Ukraini.
4. Han, J., Yang, F., Jiang, W., Zhang, G., Liu, Z., Liu, X., & Zhao, G. (2016). Hydroxyethyl starch 130/0.4 and sodium chloride injection as adjunctive therapy in patients with cerebral hyperperfusion. *BMC Neurology*, 12, 127-135. doi:10.1186/1471-2377-12-127.
5. Lehmann, L., Bendel, S., Uehlinger, D.E., Takala, J., Schafer, M., Reinert, M., & Jakob, S. M. (2015). Randomized, double-blind trial of the effect of fluid composition on electrolyte, acid base, and fluid homeostasis in patients early after subarachnoid hemorrhage. *Neurocritical Care*, 18 (1), 5-12. doi: 10.1007/s12028-012-9764-3.
6. Li, C. Y., Karmarkar, A., Adhikari, D., Ottenbacher, K., & Kuo, Y. F. (2018). Effects of Age and Sex on Hospital Readmission in Traumatic Brain Injury. *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 99 (7), 1279-1288.e1. doi: 10.1016/j.apmr.2017.12.006.
7. Oddo, M., Poole, D., Helbok, R., Meyfroidt, G., Stocchetti, N., Bouzat, P. & Citerio, G. (2018). Fluid therapy in neurointensive care patients: ESICM consensus and clinical practice recommendations. *Intensive Care Medicine*, 44 (4), 449-463. doi: 10.1007/s00134-018-5086-z.

References

1. Stepanyuk, H. I., Moroz, V. M., & Khodakivs'kyi, O. A. (2018).

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ В УСЛОВИЯХ ГЕМОРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА НА ФОНЕ ФАРМАКОТЕРАПИИ АДЕМОМ

Жабоедова Н.В., Ходаковский А.А.

Аннотация. В статье на модели субарахноидального кровоизлияния раскрыты некоторые биохимические аспекты церебропротекторного действия промышленного образца ампульного 1,0% раствора адемола, а именно его влияние на показатели углеводного, энергетического обменов, состояние антиоксидантных систем, активность процессов липопероксидации, а также функционирование системы L-аргинин/NO в мозге крыс, как возможные метаболитотропные составляющие его защитного эффекта на нейроны головного мозга. Субарахноидальное кровоизлияние тяжелой степени тяжести создавали в условиях пропофолового наркоза инъекцией гепаринизированной аутокрови (объемом 0,1 мл/кг) через катетер, расположенный в субарахноидальном пространстве. Использовали параметрический критерий t Стьюдента, непараметрический критерий W. Уайта, парный критерий T Вилкоксона - для определения значимых изменений в динамике внутри группы. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. На примере острого периода субарахноидального кровоизлияния установлено, что адемом способен ликвидировать энергодефицит мозга (увеличивать в мозге содержание аденозинтрифосфорной кислоты и пирувата при одновременном повышении энергетического заряда относительно образцов контрольной патологии в среднем соответственно на 45,1, 42,9 и 22,0%, $p < 0,05$) уменьшать лактатацидоз (снижать содержание лактата на 31,9%, $p < 0,05$), ликвидировать проявления оксидативного стресса (уменьшать уровень малонового диальдегида и карбонильных групп белков в среднем на 30,5 и 18,8%, на фоне роста активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы соответственно на 42,1, 25,2 и 37,6%, $p < 0,05$), моделировать обмен монооксида азота (повышать активность NO-синтазы при одновременном увеличении содержания донатора NO L-аргинина в среднем соответственно на 14,0 и 44,0%, $p < 0,05$). По указанным свойствам адемом достоверно превосходил эффективность растворов амантадина и магния сульфата.

Ключевые слова: адемом, инсульт, субарахноидальное кровоизлияние, нейропротекция.

THE STUDY OF METABOLIC PROCESSES IN THE BRAIN IN CONDITIONS OF HEMORRHAGIC STROKE ON THE BACKGROUND OF PHARMACOTHERAPY WITH ADEMOL

Zhaboedova N.V., Khodakovsky A.A.

Annotation. In the article, on the model of subarachnoid hemorrhage, some biochemical aspects of the cerebroprotective effect of an industrial sample of an ampoule 1.0% solution of ademol are disclosed, namely its effect on carbohydrate and energy metabolism, the state of antioxidant systems, the activity of lipoperoxidation processes, and the functioning of the L-arginine / NO system in rat brain as possible metabolitotropic components of its protective effect on brain neurons. Severe subarachnoid hemorrhage was created under conditions of propofol anesthesia by injection of heparinized autologous blood (0.1 ml / kg volume) through a catheter located in the subarachnoid space. We used the Student t parametric criterion, W. White nonparametric criterion, $\bar{T}$ Wilcoxon paired criterion - to determine significant changes in the dynamics within the group. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. Using the example of the acute period of subarachnoid hemorrhage, it was established that ademol is able to eliminate brain energy deficiency (increase the content of adenosine triphosphoric acid and pyruvate in the brain while increasing the energy charge relative to the control pathology samples by an average of 45.1, 42.9 and 22.0%, $p < 0.05$) reduce lactic acidosis (reduce the lactate content by 31.9%, $p < 0.05$), eliminate the manifestations of oxidative stress (reduce the level of malondialdehyde and carbonyl groups of proteins on average by 30.5 and 18.8%, against the background of an increase in the activity of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase by 42.1, 25.2 and 37.6%, respectively, $p < 0.05$), simulate the exchange of nitric monoxide (increase the activity of NO synthase with a simultaneous increase in the content of NO L-arginine donor on average by 14.0 and 44.0%, respectively, $p < 0.05$). In these properties, ademol significantly exceeded the effectiveness of solutions of amantadine and magnesium sulfate.

Keywords: ademol, stroke, subarachnoid hemorrhage, neuroprotection.