ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2021-25(2)-01

УДК: 615.275:617.51-001.1:599.323.4

МОЖЛИВОСТІ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ АДЕМОЛОМ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ ІЗ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЮ ТРАВМОЮ

Семененко С. І.

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

Відповідальний за листування:
e-mail: semenenko1@rambler.ru

Статтю отримано 22 лютого 2021 р.; прийнято до друку 25 березня 2021 р.

Анотація. Важливим заходом інтенсивної терапії хворих із черепно-мозковою травмою (ЧМТ) є використання фармако-терапевтичних засобів із антиоксидантними властивостями. Метою роботи було оцінити вплив адемола в порівнянні з амантадином сульфатом та 0,9% розчином NaCl на перебіг процесів оксидативного стресу в головному мозку щурів із ЧМТ. Досліди проведено на 28 білих щурах-самцях масою 160-190 г. Експериментальну модель ЧМТ важкого ступеня тяжкості викликали дією потоку вуглекислого газу під тиском, що створювали із використанням газобалонного пневматичного пістолету. Терапевтичну дію адемола на модельній ЧМТ оцінювали при застосуванні дози 2 мг/кг. Псевдооперовані тварини та контрольна група отримували 0,9% розчин NaCl та амантадин сульфат у дозі 2 мг/кг та 5 мг/кг в/в. Дані обробляли за допомогою програми StatPlus 2009. Використовували параметричний критерій t-Ст'юдента, непараметричний критерій W. Уайта, парний критерій Т. Вілкоксона, кутове перетворення Фішера при $p < 0,05$. У ході проведеного експерименту виявлено, що лікування щурів з ЧМТ адемолом приводить до зменшення активності процесів пероксидації ліпідів та окисної деструкції білків ($p < 0,05$) та сприяє нормалізації активності антиоксидантних ензимів у клітинах травматично пошкодженого головного мозку ($p < 0,05$). Застосування адемола в порівнянні з амантадином сульфатом та 0,9% розчину NaCl, супроводжувалось більш суттєвим зменшенням активності процесів пероксидації ліпідів та окисної деструкції білків та покращенням рівня антиоксидантних ензимів в пошкодженому головному мозку тварин з ЧМТ ($p < 0,05$).

Ключові слова: черепно-мозкова травма, адемола, амантадин сульфат, щури.

Вступ

Великі сподівання сучасної медицини на нейропротекторну терапію, стимулювали науковців всього світу на активний пошук нових ефективних засобів впливу на патофізіологічні каскади розвитку нейронального пошкодження [1, 12]. Базовими принципами проведення інтенсивної терапії у хворих з ЧМТ є підтримка метаболізму мозкової тканини і захист її від структурних уражень [2].

На сьогодні основною складовою інтенсивної терапії при ЧМТ є терапія, яка включає в себе ряд заходів, що направлені на спроможність попереджати розвиток та корегувати прояви порушення гомеостазу, що ідуть поряд з травматичним пошкодженням головного мозку. Згідно сучасних уявлень відповідний захист головного мозку на фоні травматичного пошкодження можуть здійснювати церебропротектори [4, 10]. Одним із ускладнень, що супроводжують ЧМТ, є гостра церебральна ішемія [4]. Вибір лікарських засобів (ЛЗ) при ушкодженнях ГМ є однією з найбільш складних проблем у комплексі лікування таких хворих [8].

Аналіз літературних джерел вказує на те, що при пошкодженні головного мозку реєструється гіперпродукція активних форм кисню тканинами головного мозку, що активує розвиток у його структурах процесів оксидативного та нітрозативного стресу білків, ліпідів та нуклеїнових кислот нейронів, порушує афінність та специфічність рецепторів, генерацію потенціалів дії та провідність нервового імпульсу [7, 11]. Тому, важливим заходом інтенсивної терапії хворих із ЧМТ є використан-

ня фармакотерапевтичних засобів із антиоксидантними властивостями [6]. Блокада NMDA-рецепторів вважається однією з основних ланок нейропротекції [9].

Тому доцільним є з'ясування впливу нового церебропротектора, а саме похідного адамантану 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемола) на перебіг процесів оксидативного стресу при важкій експериментальній моделі ЧМТ.

Мета роботи - оцінити вплив адемола в порівнянні з амантадином сульфатом та 0,9% розчином NaCl на перебіг процесів оксидативного стресу в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою.

Матеріали та методи

Досліди проведено на 28 (по 7 у кожній групі) білих щурах-самцях масою 160-190 г, які перебували у стандартних умовах віварію, з дотриманням етичних норм проведення експериментальних досліджень згідно з "Загальними принципами роботи на тваринах", затвердженими І Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) та Законом України "Про захист тварин від жорстокого поводження" від 26.02.2006 р. Експериментальну модель ЧМТ викликали дією потоку вуглекислого газу під тиском, що створювали із використанням газобалонного пневматичного пістолету марки "Байкал МР-654К" (РФ, Іжевськ, № сертифікату РОСС RU МЖ03.В02518) та балонів вуглекислого газу (маса зрідженого CO_2 - 12 г) під тиском (Crosman, США, №серії 456739). Щурам в умовах пропофолового наркозу (60

мг/кг), після катетеризації стегнової вени та налагодження можливості здійснювати інфузію через інфузомат, здійснювали правобічну кістково-пластичну трепанацію черепа проекції середньої мозкової артерії, з діаметром отвору 5 мм². Після фіксації щура в положенні на животі вниз головою здійснювали постріл з фіксованої відстані (постріл впритул), кістковий фрагмент на окісті разом із апоневрозом, повертали на місце і рану зашивали пошарово. Таким чином моделювалася ЧМТ важкого ступеня.

Терапевтичну дію адемола ("Адемола-Дарниця", Дарниця, Україна, 10 ампул по 5 мл концентрацією 1 мг/мл) на модельній ЧМТ оцінювали при застосуванні дози 2 мг/кг внутрішньовенно. Лікування відбувалось шляхом повільної внутрішньовенної інфузії інфузоматом, яка тривала 2 год. з інтервалом 2 р/д (через кожні 12 год.) впродовж 8-ми діб. Лікування розпочинали через 1 год. після моделювання патологічного стану. Псевдооперованих тварин піддавали всім втручанням (наркоз, розріз шкіри, кістково-пластична трепанація черепа) за виключенням маніпуляцій, які безпосередньо могли б призвести до травматичного ураження мозку, що нівелювало вплив травматичних умов експерименту. Їм також вводили еквівалентну кількість 0,9% розчину NaCl до дози адемола. В якості лікарських засобів для контрольної групи застосовували 0,9% розчин NaCl у дозі 2 мл/кг в/в у тому ж режимі, а для групи порівняння - амантадину сульфат ("ПК-Мерц", Merz Pharmaceuticals, Швейцарія, 200мг/500мл) на модельній ЧМТ оцінювали при застосуванні дози 5 мг/кг внутрішньовенно у тому ж режимі.

Біохімічні процеси в травматично-пошкоджену ГМ досліджували на 8-му добу ЧМТ. Вміст малонового діальдегіду (МДА) - за реакцією з тіобарбітуровою кислотою, карбонільних груп протеїнів (КГП) - за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином. Активність супероксиддисмутази (СОД) оцінювали за відсотком гальмування окиснення кверцетину, а каталази - за швидкістю деградації гідроген пероксиду. Активність глутатіонпероксидази (ГПО) визначали спектрофотометричним методом за накопиченням окисненого глутатіону [3].

Кількісні дані обробляли за допомогою програми статистичної обробки StatPlus 2009. Використовували параметричний критерій t-Ст'юдента у випадках нормального розподілу варіаційного ряду, непараметричний критерій W. Уайта - за його відсутності, парний критерій Т. Вілкоксона - для визначення змін у динаміці всередині групи, кутове перетворення Фішера [5] - при обліку результатів в альтернативній формі (наявність або відсутність певної ознаки). Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати. Обговорення

Встановлено, що за умов експериментальної ЧМТ у структурах головного мозку щурів реєструється гіперактивна вільнорадикального окиснення ліпідів біомем-

Рис. 1. Вплив курсової 8-ми денної інфузії адемола та амантадину сульфату на вміст продуктів перекисації ліпідів у головному мозку щурів із ЧМТ ($M \pm m$, $n=7$).

Примітки: ° - $p < 0,05$ щодо псевдооперованих тварин; * - $p < 0,05$ щодо групи контрольної патології; # - $p < 0,05$ щодо амантадину сульфату.

Рис. 2. Вплив курсової 8-ми денної інфузії адемола та амантадину сульфату на вміст продуктів перекисації протеїнів у головному мозку щурів із ЧМТ ($M \pm m$, $n=7$).

Примітки: ° - $p < 0,05$ щодо псевдооперованих тварин; * - $p < 0,05$ щодо групи контрольної патології; # - $p < 0,05$ щодо амантадину сульфату.

бран (рис. 1). Найбільш активним препаратом, який попереджував окисну деградацію ліпідів був адемола. У групі тварин, лікованих цим препаратом, вміст МДА у мозку був меншим на 58,3% ($p < 0,05$), ніж у тварин групи контрольної патології, медіана становила 14,6 (95% ДІ 12,6-15,5) мкмоль/г сухої тканини, а персентильний інтервал P25-P75 - 13,4-15,1 мкмоль/г сухої тканини. За здатністю стримувати перекисацію ліпідів амантадин сульфат поступався адемола. У тварин, яким застосовували амантадин, вміст МДА у мозку був меншим на 48,4% ($p < 0,05$), ніж у тварин групи контрольної патології, медіана становила 16,1 (95% ДІ 14,9-16,7) мкмоль/г сухої тканини, а персентильний інтервал P25-P75 - 15,5-16,3 мкмоль/г сухої тканини.

Розвиток ЧМТ асоціюється з активацією окисної модифікації протеїнів (рис. 2). Застосування досліджува-

Рис. 3. Вплив курсової 8-ми денної інфузії адемолу та амантадину сульфату на активність СОД у головному мозку щурів із ЧМТ ($M \pm m$, $n=7$).

Примітки: ° - $p < 0,05$ щодо псевдооперованих тварин; * - $p < 0,05$ щодо групи контрольної патології.

Таблиця 1. Вплив курсової 8-ми денної інфузії адемолу та амантадину сульфату на активність антиоксидантних ферментів у головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою ($M \pm m$, $n=7$).

Групи тварин	Активність ферментів	
	ГПО, мкмоль/хв. на 1 мг протеїну	Каталаза, мккатал/мг протеїну
Псевдооперовані тварини + 0,9% розчин NaCl	72,7 $\pm$ 1,37	6,82 $\pm$ 0,26
ЧМТ + 0,9 % розчин NaCl (контрольна патологія)	40,2 $\pm$ 2,30°	3,62 $\pm$ 0,17°
ЧМТ + адемолом	68,7 $\pm$ 0,99°*	6,86 $\pm$ 0,16°*
ЧМТ + амантадину сульфат	58,1 $\pm$ 0,84°*	6,48 $\pm$ 0,08°*

Примітки: ° - $p < 0,05$ щодо псевдооперованих тварин; * - $p < 0,05$ щодо групи контрольної патології; # - $p < 0,05$ щодо амантадину сульфату.

них препаратів різною мірою стримує активацію процесів окисної деградації білків у тканинах мозку. Найбільш активним препаратом, який попереджував накопичення карбонільованих протеїнів, був адемолом. У групі тварин, лікованих адемолом, вміст КГП у мозку був меншим на 40,1% ($p < 0,05$), ніж у тварин групи контрольної патології, медіана становила 4,90 (95% ДІ 4,62-5,54) мкмоль/г сухої тканини, а персентильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ - 4,73-5,30 мкмоль/г сухої тканини. Амантадин дещо поступався адемолу за цим ефектом. У тварин, яким застосовували амантадин, вміст КГП у мозку був меншим на 39,1% ($p < 0,05$), ніж у тварин групи контрольної патології, медіана становила 4,99 (95% ДІ 4,65-5,59) мкмоль/г сухої тканини, а персентильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ - 4,83-5,39 мкмоль/г сухої тканини.

Таким чином, застосування адемолу на тлі ЧМТ попереджує гіперактивацію процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів біомембран клітин головного мозку, що є одним із важливих механізмів ре-

лізації церебропротекторної активності цього препарату.

Гіперактивація перекисного окиснення ліпідів та протеїнів за умов ЧМТ відбувається на тлі зниження швидкості інактивації супероксидного аніон-радикалу (рис. 3).

Застосована фармакотерапія, а особливо введення адемолу, попереджувала падіння швидкості реакції дисмутації супероксид-аніон радикалу в мозку тварин з ЧМТ (рис. 3). У групі щурів, яким використовували адемолом, активність СОД у мозку на 105% перевищувала показник групи контрольної патології, медіана її активності дорівнювала 2,69 (95% ДІ 2,17-3,16) ум.од/мг протеїну, а $P_{25}-P_{75}$ - 2,25-2,97 ум.од/мг протеїну. За вказаним ефектом амантадин сульфат дещо поступався адемолу. У тварин, яким застосовували амантадин, активність СОД у мозку була меншою на 101%, медіана її активності дорівнювала 2,53 (95% ДІ 2,09-3,11) ум.од/мг протеїну, а $P_{25}-P_{75}$ - 2,28-2,92 ум.од/мг протеїну.

ЧМТ супроводжується не лише порушенням дисмутації супероксидного аніону в клітинах мозку, а й пригніченням інактивації гідроген пероксиду за участі ферментів ГПО та каталази (табл. 1). Фармакотерапія досліджуваними препаратами стримувала падіння активності антиоксидантних ферментів ГПО та каталази в структурах головного мозку, причому найбільша ефективність виявилась у адемолу (табл. 1). У групі тварин з ЧМТ, лікованих адемолом, активність ГПО у тканинах мозку була більшою на 70,9% (коливалась від 65,2 до 71,4 мкмоль/хв. на 1 мг протеїну), а активність каталази - на 89,5% (змінювалась від 6,39 до 7,45 мккатал/мг протеїну), ніж показники в групі контрольної патології. У тварин, яким вводили амантадин сульфат, активність ГПО у тканинах мозку виявилась більшою на 44,5% (коливалась від 55,5 до 61,2 мкмоль/хв. на 1 мг протеїну), а активність каталази - на 79,0% (змінювалась від 6,21 до 6,75 мккатал/мг протеїну), ніж відповідні показники в групі контрольної патології.

За результатами проведених досліджень нами показано, що застосування адемолу на тлі ЧМТ стримує падіння активності ферментативної антиоксидантної ланки, попереджує накопичення активних кисневих інтермедіатів та сповільнює перебіг реакцій вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів у структурах головного мозку щурів.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Лікування щурів з ЧМТ адемолом приводить до зменшення активності процесів пероксидації ліпідів та окисної деструкції білків ($p < 0,05$) та сприяє нормалізації активності антиоксидантних ферментів у клітинах травма-тично пошкодженого головного мозку ($p < 0,05$).

2. Застосування адемолу в порівнянні з амантадину сульфатом та 0,9% розчину NaCl, супроводжувалось більш суттєвим зменшенням активності процесів пероксидації ліпідів та окисної деструкції білків і покращен-

ням рівня антиоксидантних ензимів у пошкодженному головному мозку тварин з ЧМТ ($p < 0,05$).

Терапевтичний ефект, який був отриманий в експе-

рименті від терапії адемолом, є підставою для вивчення захисної дії інших церебропротекторів при ЧМТ.

Список посилань - References

- [1] Arun, P., Ariyannur, P. S., Moffett, J. R., Xing, G., Hamilton, K., Grunberg, N. E., Ives, J. A., & Namboodiri, A. M. A. (2010). Metabolic acetate therapy for the treatment of traumatic brain injury. *J. Neurotrauma*, 27(1), 293-298. doi: 10.1089/neu.2009.0994
- [2] Carney, N., Totten, A. M., & O'Reilly, C. (2016). *Guidelines for the Management of Severe Traumatic Brain Injury* (4th ed.). Reviewed for evidence-based integrity and endorsed by the American Association of Neurological Surgeons and the Congress of Neurological Surgeons. September 2016/https://braintrauma.org/uploads/03/12/Guidelines for Management of Severe TBI 4th_Edition.pdf.
- [3] Goryachkovsky, O. M. (2005). *Клінічна біохімія в лабораторній діагностиці: довідковий посібник [Clinical biochemistry in laboratory diagnostics: a reference guide]*. Одеса: Екологія - Odessa: Ecology.
- [4] Khodakivsky, O. A. (2013). Вплив адемола на показники енергетичного обміну в головному мозку щурів із моделлю гострої церебральної ішемії [The effect of ademol on energy metabolism in the brain of rats with a model of acute cerebral ischemia]. *Буковинський медичний вісник - Bukovinian Medical Bulletin*, 2(66), 140-143.
- [5] Lapach, S. N., Chubenko, A. V., & Babich, P. N. (2000). *Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel [Statistical methods in biomedical research using Excel]*. Киев: МОРИОН - Kiev: MORION.
- [6] Long, B., & Koyfman, A. (2018). Secondary Gains: Advances in Neurotrauma Management. *Emerg Med Clin. North Am.*, 36(1), 107-133. doi: 10.1016/j.emc.2017.08.007
- [7] Nishizawa, Y. (2001). Glutamate release and neuronal damage in ischemia. *Life Sci.*, 69(4), 369-381. doi: 10.1016/s0024-3205(01)01142-0
- [8] 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 Med.*, 44(4), 449-463. doi: 10.1007/s00134-018-5086-z
- [9] Olloquequi, J., Cornejo-Cordova, E., Verdague, E., Soriano, F. X., Binivignat, O., Auladell, C., & Camins, A. (2018). Excitotoxicity in the pathogenesis of neurological and psychiatric disorders: Therapeutic implications. *J Psychopharmacol.*, 32(3), 265-275. doi: 10.1177/0269881118754680
- [10] Saniova, B., Drobny, M., Lehotsky, J., Sulaj, M., & Schudichova, J. (2006). Biochemical and clinical improvement of cytotoxic state by amantadine sulphate. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 26(7-8), 1475-1482. doi: 10.1007/s10571-006-9033-0
- [11] Semenenko, A. I., Kobeliatsky, Yu. Yu., & Kondratsky, B. O. (2015). Зміни показників оксидантно-антиоксидантної рівноваги на фоні інфузійної терапії при ішемії-реперфузії головного мозку [Changes in oxidative-antioxidant balance on the background of infusion therapy in ischemia-reperfusion of the brain]. *Медицина неотложных состояний - Emergency medicine*, 2(65), 116-119.
- [12] Semenenko, A. I., Kobeliatsky, Yu. Yu., Kondratsky, B. O., & Semenenko, N. O. (2016). Оцінка терапевтичної ефективності 0,9% розчину NaCl та розчину маніту в пацієнтів із гострим ішемічним інсультом за неврологічним дефіцитом [Evaluation of the therapeutic efficacy of 0.9% NaCl solution and mannitol solution in patients with acute ischemic stroke with neurological deficits]. *Медицина неотложных состояний - Emergency Medicine*, 6(77), 98-101. Retrieved from http://nbuv.gov.ua/UJRN/Medns_2016_6_17

THE POSSIBILITIES OF PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF ADEMOL OXIDATIVE STRESS IN RATES WITH TRAUMATIC BRAIN INJURY

Semenenko S. I.

Annotation. An important measure of intensive care in patients with traumatic brain injury (TBI) is the use of pharmacotherapeutic agents with antioxidant properties. The aim of this study was to evaluate the effect of ademol compared with amantadine sulfate and 0.9% NaCl solution on the course of oxidative stress in the brain of TBI rats. The experiments were performed on 28 white male rats weighing 160-190 g. The experimental TBI model of severe severity was caused by the action of a carbon dioxide flow under pressure created using a gas balloon pneumatic gun. The therapeutic effect of ademol on model TBI was evaluated with a 2 mg/kg dose. The pseudoperated animals and control group received a 0.9% solution of NaCl and amantadine sulfate at a dose of 2 ml/kg and 5 mg/kg i/v. Data were processed using StatPlus 2009. We used the parametric criterion of t-Student, non-parametric criterion of W. White, paired criterion T. Wilcoxon, Fisher's angular transformation at $p < 0,05$. In the course of the experiment, it was found that treatment of rats with TBI ademol leads to a decrease in the activity of lipid peroxidation and oxidative degradation of proteins ($p < 0,05$) and promotes the normalization of the activity of antioxidant enzymes in cells of traumatically damaged brain ($p < 0,05$). The use of ademol compared to amantadine sulfate and 0.9% NaCl solution was accompanied by a more significant decrease in the activity of lipid peroxidation and oxidative degradation of proteins and an improvement in the level of antioxidant enzymes in damaged brain of animals with TBI ($p < 0,05$).

Keywords: traumatic brain injury, ademol, amantadine sulfate, rats.