

Л.І. Власик, д. м. н., І.І. Заморський, д. м. н.,
Т.І. Кметь, к. м. н., О.Г. Кметь, к. м. н.

ВПЛИВ ПОЄДНАНОГО ВВЕДЕННЯ ПІРАЦЕТАМУ ТА АМАНТАДИНУ НА СТАН АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ОКРЕМИХ СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ В УМОВАХ ГОСТРОЇ ГІПОКСІЇ

Буковинський державний медичний університет;
ДП НДІ медико-екологічних проблем МОЗ України, м. Чернівці

Значне погіршення еколого-антропогенної ситуації на планеті негативно впливає на здоров'я людей, що сприяє швидкому поширенню серцево-судинних, неврологічних, ендокринних захворювань і вимагає використання найновіших досягнень фармакології [1].

За останні роки увага багатьох дослідників зосереджена на тому, що вказані вище настільки різні захворювання людини об'єднує дещо спільне — виражений синдром ліпопероксидації, який виникає внаслідок тривалого впливу екстремальних чинників екзогенного та ендогенного походження і проявляється гіпоксичними станами [2]. При цьому будь-яка активація пероксидного окиснення ліпідів мембрани і клітини в цілому завжди несприятлива в прогностичному плані і потребує включення захисних механізмів підтримки функціональної активності клітини. Особливо ці зміни виражені у тварин ювенільного віку через те, що саме незрілий мозок швидше піддається дії окисного стресу за гострої гіпоксії, ніж мозок дорослих тварин [3]. Крім того, формування кровоносної системи головного мозку завершується тільки перед початком статевого дозрівання організму [4], а недорозвинутість судинного русла сприяє більшій чутливості нервових клітин до дії кисневої недостатності.

Доведено, що збуджувальний нейромедіатор глутамат відіграє вирішальну роль в активації вільнорадикального окислення макромо-

лекул та наступному пошкодженні нервових клітин за умов гіпоксичних станів [5]. Відомо [6], що широко застосований ноотропний засіб пірацетам посилює вивільнення глутамату з глутаматергічних нейронів. Цим можна пояснити недостатню ефективність пірацетаму у гострій фазі захворювань, які виникають внаслідок порушень мозкового кровообігу з формуванням гіпоксії нервових клітин. Тому доцільним є дослідження стану антиоксидантного захисту нейронів за дії гострої гіпоксії при введенні пірацетаму на тлі застосування протипаркінсонічного засобу з антиглутаматною активністю амантадину.

Мета дослідження — вивчити вплив поєданого та окремого застосування пірацетаму та амантадину на активність ферментів антиоксидантного захисту деяких структур головного мозку за умов гострої гіпоксії у тварин ювенільного віку.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проводили на статевонезрілих середньостійких до гіпоксії самцях нелінійних білих шурів масою 0,065–0,075 кг. Тварин утримували при температурі 20–24°C на стандартному збалансованому харчовому раціоні з вільним доступом до води. До початку досліджень визначали стійкість шурів до гострої гіпобаричної гіпоксії і в подальшому використовували лише середньостійких тварин.

Пірацетам ("Дарниця", Україна) та амантадин ("Мерц", Німеччина) вводили одноразово внутрішньо-

очеревинно перед моделюванням гіпоксії у дозах відповідно 200 мг/кг [6, 7] і 100 мг/кг [5].

Гостру гіпоксичну гіпобаричну гіпоксію моделювали за допомогою проточної барокамери шляхом розрідження повітря до величин, що еквівалентні висоті 12000 м, зі швидкістю 50 м/с. На "висотному плато" шурів витримували до моменту другого агонального вдиху, після чого здійснювали "спуск" на попередню нульову висоту, відновлюючи нормальний атмосферний тиск і життєдіяльність тварин.

Евтаназію шурів виконували шляхом декапітації під ефірним наркозом через 30 хв після припинення дії гострої гіпоксії та швидко забирали мозок, який зберігали в рідкому азоті до проведення подальших досліджень. Стан антиоксидантної системи (АОС) досліджували в гомогенаті тканин фронтальної кори, блідій кулі, хвостатого ядра, гіпокампу, які виділяли на зрізах переднього мозку.

Стан АОС мозку оцінювали за активністю каталази [8] і глутатіонпероксидази (ГП) [9]. Активність каталази виражали в мкмоль пероксиду водню, що розклався за хв на мг білка, а глутатіонпероксидази — в ммоль окисненого глутатіону за хв на мг білка. Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) визначали за методом А. Корнберга і Б. Хорекера в модифікації Ю.Л. Захар'їна [10].

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

При вивченні впливу гострої гіпоксії на стан ферментів антиоксидантного захисту виявлено, що їх активність була різною залежно від досліджених структур. Зокрема, активність каталази (табл. 1) була нижчою у корі головного мозку на 77% ($p < 0,05$); гіпокампі — на 44% ($p < 0,05$); блідій кулі — на 67% ($p < 0,001$); хвостатому ядрі — на 26% ($p < 0,05$) відносно контрольної групи. При цьому показник активності ГП у корі головного мозку знижувався у порівнянні з контролем на 61% ($p < 0,05$), а в гіпокампі, блідій кулі і хвостатому ядрі, навпаки, зростав, відповідно, на 61%

Активність каталази та глутатіонпероксидази у досліджуваних структурах головного мозку при поєднаному введенні пірацетаму та амантадину перед моделюванням гострої гіпобаричної гіпоксії ($M \pm m$, $n=7$)

Досліджувані структури	Контроль (нормоксія)	Гіпоксія	Пірацетам і гіпоксія	Амантадин і гіпоксія	Пірацетам + амантадин і гіпоксія
Активність каталази, мкмоль/(хв х мг білка)					
Кора головного мозку	1,11±0,05	0,26±0,02*	0,65±0,03*,**	0,51±0,02*,**	1,01±0,03*,**,#,*
Гіпокамп	1,35±0,06	0,76±0,02*	1,50±0,02*,**	1,22±0,02*,**	1,66±0,03*,**,#,*
Бліда куля	0,78±0,04	0,26±0,02*	0,77±0,02*,**	0,74±0,02*,**	1,11±0,03*,**,#,*
Хвостате ядро	1,57±0,02	1,15±0,14*	1,55±0,04**	1,75±0,02*,**	1,96±0,03*,**,#,*
Активність глутатіонпероксидази, ммоль/(хв х мг білка)					
Кора головного мозку	1,79±0,14	0,70±0,06*	1,29±0,06*,**	1,98±0,05**	1,36±0,04**,*
Гіпокамп	0,74±0,03	1,90±0,09*	1,08±0,04*,**	1,11±0,04*,**	1,85±0,03*,#,*
Бліда куля	0,77±0,03	1,09±0,04*	0,88±0,01*,**	0,84±0,02*,**	0,79±0,01**,*
Хвостате ядро	1,47±0,04	2,19±0,04*	1,87±0,03*,**	1,90±0,02*,**	1,79±0,02**,#,*

Примітки в цій та табл. 2: 1.* — показники вірогідно відрізняються від даних контролю; 2.** — показники вірогідно відрізняються від даних постгіпоксичної групи тварин; 3. # — показники вірогідно відрізняються від даних тварин, які знаходились за гіпоксії з попереднім окремим введенням пірацетаму; 4. * — показники вірогідно відрізняються від даних тварин, які знаходились за гіпоксії з попереднім окремим введенням амантадину.

($p < 0,05$), 29% ($p < 0,05$) та 33% ($p < 0,05$). Однак активність Г-6-ФДГ (табл. 2) у постгіпоксичних тварин достовірно зростала у корі головного мозку та хвостатому ядрі у 2 рази ($p < 0,05$), а у гіпокампі і блідій кулі, відповідно, у 2,2 та 1,6 рази ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем.

Введення пірацетаму перед гіпоксією підвищувало активність каталази у корі в 2,5 рази ($p < 0,05$); гіпокампі — 2,0 рази ($p < 0,05$); блідій кулі — 2,9 рази ($p < 0,05$); хвостатому ядрі — 1,4 рази ($p < 0,05$) в порівнянні з групою, яка знаходилась під дією гіпоксії без введення препарату. Активність ГП у порівнюваних групах

тварин зростала у корі головного мозку в 1,8 рази ($p < 0,05$), а у гіпокампі, блідій кулі та хвостатому ядрі знижувалась в середньому в 1,4 рази ($p < 0,05$). При цьому активність Г-6-ФДГ знижувалась у всіх досліджуваних структурах головного мозку в 1,4 рази ($p < 0,05$).

У тварин, яким перед гіпоксією вводили амантадин, активність каталази зростала у порівнянні з постгіпоксичними щурами: у корі — в 2,0 рази ($p < 0,05$), гіпокампі — 1,6 рази ($p < 0,05$), блідій кулі — 2,8 рази ($p < 0,05$) та хвостатому ядрі — 1,5 рази ($p < 0,05$). У досліджуваних групах щурів активність ГП була нижчою в

1,7 рази ($p < 0,05$) — у гіпокампі; 1,3 рази ($p < 0,05$) — у блідій кулі та 1,2 рази ($p < 0,05$) — у хвостатому ядрі. У корі головного мозку активність цього ферменту зростала у 2,8 рази ($p < 0,05$). У цих же тварин активність Г-6-ФДГ знижувалась у корі, гіпокампі, блідій кулі та хвостатому ядрі, відповідно, в 1,4 рази ($p < 0,05$); 1,5 рази ($p < 0,05$); 1,3 рази ($p < 0,05$) і 1,2 рази ($p < 0,05$).

Достовірно зростала активність каталази у всіх досліджуваних структурах при поєднанні досліджуваних лікарських засобів у середньому в 3 рази ($p < 0,05$) у порівнянні з тваринами, яким перед гіпоксією вводили

Таблиця 2

Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази у досліджуваних структурах головного мозку при поєднаному введенні пірацетаму та амантадину перед моделюванням гострої гіпобаричної гіпоксії ($M \pm m$, $n=7$)

Групи тварин	Кора головного мозку	Гіпокамп	Бліда куля	Хвостате ядро
Контроль	31,03±0,91	13,91±0,47	51,42±1,10	25,63±1,12
Гіпоксія	62,88±1,25*	29,59±1,14*	80,97±0,91*	49,67±0,73*
Пірацетам і гіпоксія	41,26±1,11*,**	17,824±1,26*,**	68,68±1,29*,**	39,78±0,98*,**
Амантадин і гіпоксія	44,62±0,74*,**	20,00±1,76*,**	63,68±1,23*,**	44,27±1,40*,**
Пірацетам+амантадин і гіпоксія	31,43±0,59**,#,*	12,58±0,63**,#,*	50,92±1,02**,#,*	29,83±0,57**,#,*

фізіологічний розчин. Активність ГП за поєднаного застосування препаратів знижувалась у блідій кулі в 1,4 разу ($p < 0,05$) та хвостатому ядрі — 1,2 раза ($p < 0,05$) у порівнянні з постгіпоксичними тваринами, яким не вводили препарати. Проте у корі головного мозку активність даного ферменту зростала в 1,9 рази ($p < 0,05$), а у гіпокампі показник активності ферменту залишався на рівні постгіпоксичних тварин. Поєднане введення пірацетаму та амантадину перед гіпоксією призводило до зниження активності Г-6-ФДГ у корі головного мозку на 50% ($p < 0,05$), гіпокампі — 57% ($p < 0,05$), блідій кулі — 37% ($p < 0,05$) та хвостатому ядрі — 40% ($p < 0,05$) у порівнянні з тваринами, яким перед гіпоксією вводили фізіологічний розчин.

Отже, на фоні поєднаного введення пірацетаму та амантадину перед гіпоксією достовірно знижува-

лась активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази; підвищувалась активність ферментів антиоксидантного захисту (каталази, глутатіонпероксидази) у порівнянні з даними постгіпоксичних тварин. Водночас у блідій кулі та хвостатому ядрі спостерігалось достовірне зниження активності глутатіонпероксидази. Отримані результати можна пояснити відмінностями співвідношення активності каталази та глутатіонпероксидази в залежності від швидкості споживання кисню. В роботі [11] показано, що каталаза і глутатіонпероксидаза, які близькі за функціональним призначенням, виявляють протилежну спрямованість кореляційних зв'язків із вивченими показниками інтенсивності газообміну. Зростання активності ГП у корі головного мозку можна пояснити тим, що дана структура є філогенетично новішою і більш

стійкою до гіпоксії [1].

Отримані дані вказують на те, що поєднане застосування пірацетаму та амантадину сприяє підвищенню стійкості нейронів до дії гострої гіпоксії.

Висновки

1. Гостра гіпоксія у статевонезрілих щурів викликає зниження активності каталази (у всіх структурах головного мозку) і глутатіонпероксидази (у блідій кулі, хвостатому ядрі й гіпокампі) та підвищує активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і глутатіонпероксидази у корі головного мозку.
2. Поєднане введення пірацетаму та амантадину перед гострою гіпобаричною гіпоксією підвищує активність каталази та зменшує активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази у всіх досліджуваних структурах головного мозку

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурчинський С.Г. Старіння мозку та вікова патологія: від фармакології до фармакотерапії // Вісник фармакології та фармації. — 2002. — № 1. — С. 12-17.
2. Єлісєєва О.П., Тимочко М.Ф. Стратегія і тактика антиоксидантного захисту в клініці внутрішніх хвороб // Український медичний часопис. — 2003. — Т. 35, № 3. — С. 92-98.
3. Мальшев А. Ю., Крапивин С. В. Изменения ЭЭГ у крыс с разной чувствительностью к недостатку кислорода в условиях острой гипоксии нарастающей тяжести // Нурохія Мед. Ж. — 1996. — №2. — С. 44-45.
4. Заморський І. І., Кметь О. Г. Модель виявлення вікової чутливості до дії ксенобіотиків за ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку / Тези доп. наук. конференції "Вікові аспекти чутливості організму до ксенобіотиків". — Чернівці: Медик, 2002. — С. 6.
5. Гмиро В.Е., Сердюк С.Е. Поиск избирательных блокаторов NMDA и AMPA-каинатных рецепторов в ряду бис-амониевых соединений с адамантильными радикалами // Эксперим. и клин. фармакология. — 2000. — Т. 63, №1. — С. 7-13.
6. Воронина Т.А., Молодавкин Г.М., Борликова Г.Г., Островская Р.У. Нотропные и анксиолитические свойства разных доз пирацетама // Эксперим. и клин. фармакология. — 2000. — Т.63, №2. — С. 9-11.
7. Кметь О.Г. Вплив різних доз пірацетаму на стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги головного мозку за гострої гіпоксії // Бук. мед. вісник. — 2004. — Т.8, №3. — С. 164 — 168.
8. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. — 1988. — №1. — С. 16-19.
9. Геруш І. В., Мешишен І. Ф. Стан глутатіонової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настойки ехінацеї пурпурової // Вісник проблем біол. та мед. — 1998. — № 7. — С. 10-15.
10. Захарьин Ю. Л. Метод определения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы // Лаб. дело. — 1967. — №6. — С.327-330.
11. Мурадян Х.К., Утко Н.А., Мозжухина Т.Г. Каталаза и глутатионпероксидаза: качественно различная корреляция со скоростью потребления кислорода // Укр. біохім. журн. — 2004. — Т. 76, № 3. — С. 36 — 41.

Л.И. Власык, И.И. Заморский, Т.И. Кметь, О. Г. Кметь

ВЛИЯНИЕ СОВМЕСТНОГО ВВЕДЕНИЯ ПИРАЦЕТАМА И АМАНТАДИНА НА СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ОТДЕЛЬНЫХ СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ДЕЙСТВИИ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

В эксперименте на неполовозрелых крысах-самцах показано, что совместное введение пирацетама и амантадина перед гипоксией повышает антиоксидантную защиту нейронов в исследованных структурах головного мозга: повышается активность каталазы, глутатионпероксидазы в коре головного мозга крыс и снижается активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Предполагают, что эта комбинация лекарственных препаратов обладает антиоксидантными свойствами.

L.I. Vlasyk, I.I. Zamorskiy, O.G. Kmet, T.I. Kmet

INFLUENCE OF JOINT INTRODUCTION PYRACETAM AND AMANTADIN ON A CONDITION OF ANTIOXIDANT'S PROTECTION SYSTEM IN SEPARATE STRUCTURES OF A HEAD BRAIN AT ACTION ACUTE HYPOXIA

In experiment on male rats was shown, that the joint introduction pyracetam and amantadin before hypoxia raises antioxidant protection neureotem in structures of a head brain. It specify the received results of experiments: increase of activity katalasy, glutationperoxidasa in cortex of a head brain rats and decrease of activity glukoso-6-phosfatdegidrogenasa. Taking into account results of experiences can to assume, that this combination of medicinal preparations owns antioxidants properties.