

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Рекомендована д.м.н., професором С.М.Дроговоз

УДК 547.233:616-005.4

### ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГОСТРОЇ ЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ

І.А.Зупанець, О.Є.Грінцова

Національний фармацевтичний університет

**Пошук та розробка нових лікарських засобів, що мають церебропротекторну дію, є актуальним завданням сучасної фармакології. Це зумовлено широким розповсюдженням ішемічних ушкоджень головного мозку, з одного боку, та недостатньою ефективністю препаратів, що застосовуються, з іншого боку. Наведені у статті результати дослідження дозволяють зробити висновок, що глюкозаміну гідрохлорид в умовах гострого порушення мозкового кровообігу гальмує розвиток перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Це виявляється зниженням концентрації початкових та кінцевих продуктів ПОЛ (реактанти з тіобарбітуровою кислотою, дієнові кон'югати, трієнкетони) на 4 добу експерименту та їх нормалізацією на 18-ту добу спостереження. Встановлені властивості забезпечують церебропротекторний ефект глюкозаміну гідрохлориду.**

Судинні захворювання головного мозку є однією з найважливіших медико-соціальних проблем, посідаючи третє місце серед безпосередніх причин смерті. На частку ішемічних церебральних розладів припадає близько 75% всіх цереброваскулярних захворювань. В Україні щорічно реєструється понад 200 тисяч інсультів, летальність через які досягає 40%, а серед тих, хто вижив, значну частину складають недієздатні інваліди [1, 3].

Ішемія, що розвивається внаслідок ураження церебральних артерій, супроводжується зниженням мозкового кровопостачання та, як наслідок, зменшенням доставки кисню у клітини мозку і є головним механізмом, що розпочинає каскад патологічних біохімічних процесів у клітинах головного мозку [11]. За умов ішемії головного мозку відбувається активізація процесів вільнорадикального окиснення (ВРО) [13].

Найбільш інтенсивно підпадають під процеси ВРО, а саме — процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) ліпідні шари мембран клітин мозку [2, 4].

Накопичення внаслідок активації ПОЛ токсичних ліпідних пероксидів, які інактивують ферменти та активно руйнують мітохондріальні та клітинні мембрани, є головною причиною загибелі нейрональних клітин згідно з існуючими підходами [12].

Беручи до уваги важливість пошкоджуючої дії процесів ПОЛ, пошук ефективних та безпечних засобів захисту клітин головного мозку від оксидантного ураження є пріоритетним напрямком сучасної нейрофармакології [9].

Нашу увагу привернув природний аміноцукор глюкозаміну гідрохлорид (2-дезоксид-2-аміно-D(+)-глюкози гідрохлорид), який є природною сполукою, практично безпечною для організму, яка добре засвоюється, не викликає суттєвих побічних ефектів [14]. Він застосовується у медицині в якості хондропротектора [10] та володіє іншими видами фармакологічної активності [8].

Виходячи з хімічної структури молекули глюкозаміну гідрохлориду, можна стверджувати, що його відновні властивості превалюють над окисними [8]. Внаслідок цього глюкозаміну гідрохлорид може нейтралізувати вільні радикали та окиснювальні агенти, гальмуючи реакції ПОЛ та зумовлюючи протективну дію на тканини.

Метою даного дослідження було вивчення впливу глюкозаміну гідрохлориду на процеси ПОЛ в умовах гострого порушення мозкового кровообігу для встановлення можливого церебропротекторного ефекту.

#### Матеріали та методи

Дослідження було проведене на 70 білих щурах лінії Вістар обох статей масою 150-200 г. Усі тварини утримувались на стандартному раціоні хар-

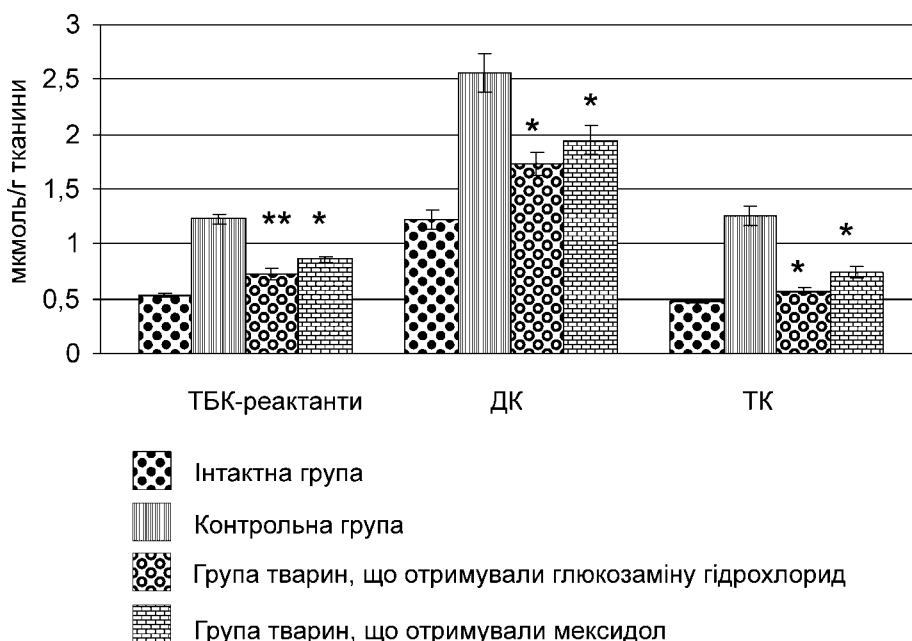


Рис. 1. Вміст маркерів ПОЛ у тканинах мозку дослідних тварин на 4 добу спостереження. Примітка: ДК — дієнові кон'югати; ТК — трієнкетони; \* — відхилення показника достовірно стосовно контрольної групи; \*\* — відхилення показника достовірно стосовно групи тварин, що отримували мексидол.

чування за умов природної зміни дня та ночі. Шури були отримані з розплідника ІФТ АМН України. Усі експериментальні процедури та оперативні втручання проводились у відповідності до "Положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях".

ГПМК моделювали двобічною перев'язкою загальних сонних артерій під нембуталовим наркозом (40 мг/кг) з використанням хірургічного доступу шляхом видалення сонних артерій та одномоментного накладання на них шовкової лігатури [7].

Глюкозаміну гідрохлорид вводили внутрішньошлунково в дозі 50 мг/кг одразу після двобічної перев'язки загальних сонних артерій, а потім у різних групах — на протязі ще двох днів та на протязі ще сімнадцяти днів.

Референтний препарат мексидол [6] вводили внутрішньошлунково в дозі 100 мг/кг за такою ж схемою.

Для оцінки інтенсивності ПОЛ у тканинах головного мозку на 4 та 18 добу визначали початкові та кінцеві продукти цього процесу — дієнові кон'югати (ДК), трієнкетони (ТК) та ТБК-реактанти.

Вміст ТБК-реактантів визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 532 нм за реакцією з тіобарбітуровою кислотою. Вміст ДК вищих жирних кислот визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 232 нм. Вміст ТК визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 272 нм [5]. Вміст ТБК-реактантів, ДК та ТК виражали у мкмоль/г тканини.

#### Результати та їх обговорення

За даними літератури, в умовах ГПМК внаслідок активації процесів ВРО відбувається підвищення маркерів ПОЛ — ТБК-реактантів, ДК та

ТК [2, 4], що підтвердилось результатами й власних досліджень (рис. 1-2).

У контрольній групі на 4 добу після перев'язки сонних артерій концентрація ТБК-реактантів підвищилась майже у 2,5 рази — до  $1,23 \pm 0,04$  мкмоль/г тканини (при  $0,53 \pm 0,02$  мкмоль/г тканини в інтактних тварин), ДК — у 2 рази ( $2,56 \pm 0,18$  мкмоль/г тканини при  $1,22 \pm 0,09$  мкмоль/г тканини в інтакту), ТК — у 2,5 рази ( $1,26 \pm 0,09$  мкмоль/г тканини при  $0,47 \pm 0,01$  мкмоль/г тканини в інтакту). Усі зсуви показників достовірні ( $p \leq 0,05$ ). На 18 добу внаслідок активації власної антиоксидантної системи рівень маркерів ПОЛ дещо знижується: ТБК-реактанти —  $1,15 \pm 0,02$  мкмоль/г тканини, ДК —  $2,36 \pm 0,27$  мкмоль/г тканини, ТК —  $1,26 \pm 0,09$  мкмоль/г тканини, однак залишається достовірно ( $p \leq 0,05$ ) високим у порівнянні з інтактною групою.

Підвищення концентрації продуктів ПОЛ відмічалось і у групі тварин, що отримували референтний препарат мексидол.

На четверту добу рівень ТБК-реактантів склав  $0,86 \pm 0,03$  мкмоль/г тканини, ДК —  $1,95 \pm 0,13$  мкмоль/г тканини та ТК —  $0,74 \pm 0,06$  мкмоль/г тканини, що було достовірно вище ( $p \leq 0,05$ ), ніж у групі інтактних тварин, однак виразність зсувів була достовірно ( $p \leq 0,05$ ) менше, аніж у контролі. У кінці спостереження (на 18 добу) концентрація ТБК-реактантів склала  $0,75 \pm 0,06$  мкмоль/г тканини, ДК —  $1,7 \pm 0,15$  мкмоль/г тканини, ТК —  $0,74 \pm 0,06$  мкмоль/г тканини. Зберігались минулі співвідношення — відхилення показників були достовірно ( $p \leq 0,05$ ) нижче, ніж у контролі та статистично значно відрізнялись від інтакту ( $p \leq 0,05$ ).

Введення глюкозаміну гідрохлориду гальмувало розвиток реакцій ПОЛ.

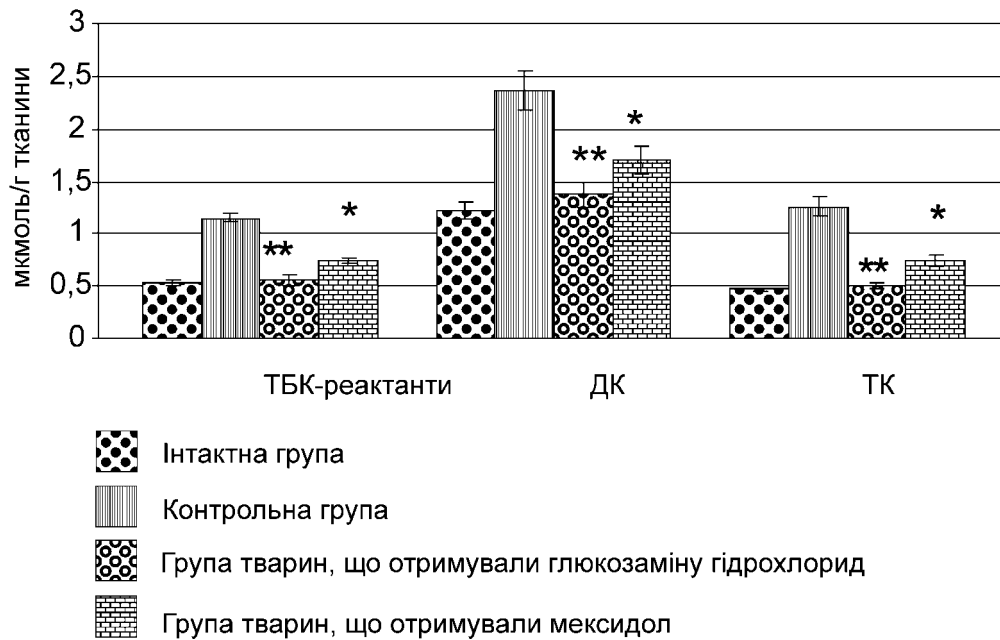


Рис. 2. Вміст маркерів ПОЛ у тканинах мозку дослідних тварин на 18 добу спостереження. Примітка: ДК — дієнові кон'югати, ТК — трієнкетони; \* — відхилення показника достовірно стосовно контрольної групи; \*\* — відхилення показника достовірно стосовно групи тварин, що отримували мексидол.

У групі тварин, що отримували глюкозаміну гідрохлорид на 4-ту добу після ГПМК, концентрація ТБК-реактантів склала  $0,72 \pm 0,05$  мкмоль/г тканини, ТК —  $0,57 \pm 0,03$  мкмоль/г тканини, що було достовірно нижче ( $p \leq 0,05$ ) у порівнянні як з контрольною групою, так і з групою тварин, що отримували мексидол. Рівень ДК склав  $1,73 \pm 0,11$  мкмоль/г тканини, що було достовірно ( $p \leq 0,05$ ) нижче у порівнянні з групою контрольної патології. На 18-ту добу рівні показників ПОЛ значно зменшились (ТБК-реактанти — до  $0,56 \pm 0,03$  мкмоль/г тканини; ДК —  $1,37 \pm 0,11$  мкмоль/г тканини; ТК — до  $0,5 \pm 0,03$  мкмоль/г тканини) та статистично значно не відрізнялись ( $p > 0,05$ ) від таких у інтактній групі.

Таким чином, встановлена наявність у глюкозаміну гідрохлориду властивості в умовах ГПМК

гальмувати розвиток ПОЛ, що виражається у зниженні концентрації маркерів ПОЛ на 4 добу та їх нормалізації на 18-ту добу спостереження.

Здатність глюкозаміну гідрохлориду знижувати активність процесів ПОЛ може знаходитися в основі його церебропротекторного ефекту.

#### ВИСНОВКИ

1. Глюкозаміну гідрохлорид в умовах гострого порушення мозкового кровообігу гальмує розвиток ПОЛ, що виявляється зниженням концентрації його початкових та кінцевих продуктів (ТБК-реактантів, дієнових кон'югатів, трієнкетонів) на 4 добу експерименту та їх нормалізацією на 18-ту добу спостереження.

2. Здатність глюкозаміну гідрохлориду знижувати активність процесів ПОЛ може знаходитися в основі його церебропротекторного ефекту.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Беленичев И.Ф., Черный В.И., Колесник Ю.М. и др. Рациональная нейропротекция. — Донецк: Издатель Заславский А.Ю., 2009. — С. 26-29.
2. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. — М.: Медицина, 2001. — 328 с.
3. Зозуля І.С., Боброва В.І. // Укр. неврол. журн. — 2006. — №1. — С. 5-8.
4. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. — М.: Наука, 2000. — С. 31-37.
5. Коган В.С., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов. — М.: Медицина, 1988. — 287 с.
6. Мексидол в клинике и эксперименте. Приложение 1 к журналу "Бюлл. экспериментальной биологии и медицины". — М.: Изд-во РАМН, 2006. — С. 117-124.
7. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. — К.: Авіценна, 2002. — 527 с.
8. Туляков В.О., Зупанець К.О., Шебеко С.К. // Фармакол. та лікарська токсикол. — 2009. — №2. — С. 3-6.

9. Amantea D., Marrone M.C., Nistico R. et al. // *Int. Rev. Neurobiol.* — 2009. — №85. — P. 363-374.
10. Clegg D.O., Reda D.J., Harris C.L. et al. // *N. Engl. J. Med.* — 2006. — Vol. 354. — P. 795-808.
11. Kreglstein J., Oberpichler-Scchwenk H. *Pharmacology of cerebral ischaemia.* — Stuttgart, Germany: Wissenschaftliche Verlags Gesellschaft, 2002. — 585 p.
12. Lutskiy M.A., Esaulenko I.E., Tonkikh R.V. et al. // *Zh. Nevrol. Psikhiatr. Im. S.S.Korsakova.* — 2007. — Suppl. 21. — P. 37-42.
13. Sims N.R., Muyderman H. // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2009. — S. 12. — P. 14-19.
14. Vangness C.T.Jr., Spiker W., Erickson J. // *Arthroscopy.* — 2009. — №25(1). — P. 86-94.

---

УДК 547.233:616-005.4

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В УСЛОВИЯХ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОСТРОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ  
ИШЕМИИ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ГЛЮКОЗАМИНА  
ГИДРОХЛОРИДА

И.А.Зупанец, О.Е.Гринцова

Поиск и разработка новых лекарственных средств, оказывающих церебропротекторное действие — актуальная задача современной фармакологии. Это обусловлено широким распространением ишемических повреждений головного мозга, с одной стороны, и недостаточной эффективностью применяемых препаратов, с другой. Представленные в настоящей статье результаты исследования позволяют заключить, что глюкозамина гидрохлорид в условиях острого нарушения мозгового кровообращения тормозит развитие перекисного окисления липидов. Это проявляется снижением концентрации его начальных и конечных продуктов (реактанты с тиобарбитуровой кислотой, диеновые конъюгаты, триенкетоны) на 4 сутки эксперимента и их нормализацией на 18-е сутки наблюдения. Установленные свойства обеспечивают церебропротекторный эффект глюкозамина гидрохлорида.

---

UDC 547.233:616-005.4

THE INFLUENCE OF GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE ON THE LIPID PEROXIDATION IN THE TERMS OF EXPERIMENTAL ACUTE CEREBRAL ISCHEMIA

I.A.Zupanets, O.E.Grintsova

Research and development of the new medical substances that have cerebro protective activity is one of the topical problems of the modern pharmacology. The wide prevalence of cerebral ischemic damages is setting conditions for it from one side. From other side the drugs that are used nowadays are not enough effective. The given in this article investigation results enable to make a conclusion that the glucosamine hydrochloride inhibits the development of lipid peroxidation in the terms of acute damage of cerebral blood circulation. This is remarkable in the reduction of its initial and end-products concentration (thiobarbituric acid-reactants, diene conjugates, trienoic cetones) on the 4-th day of the experiment and in its normalization on the 18-th day. The established properties prove the cerebroprotective effect of glucosamine hydrochloride.