

УДК 616.831-005.1:578/579:611.81

О.М.Денисюк

ПОРІВНЯЛЬНИЙ ВПЛИВ ФЛОКАЛІНУ ТА МЕКСИДОЛУ НА ПЕРЕБІГ БІОЕНЕРГЕТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ ПРИ ГОСТРІЙ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова

Резюме. Експериментально встановлено, що 14-денне внутрішньоочеревинне уведення N-(4-дифторометоксифеніл)-N'-1,2,2-триметилпропіл-N"-ціаногуанідин (флокалін) двічі на день у дозі 1 мг/кг, як і мексидолу (100 мг/кг), сприяло нормалізації порушених показників біоенергетичного метаболізму в ішемізованому головному мозку: відновлювався вміст аденілових

нуклеотидів та креатинфосфату на фоні зниження метаболічного ацидозу та зростання вмісту глюкози. Це чітко проявилось вже на 5-у добу спостереження. За величиною терапевтичного ефекту в заданих умовах експерименту флокалін зіставлявся з мексидолом.

Ключові слова: гостре порушення мозкового кровоотоку, флокалін, мексидол, біоенергетичні процеси.

Вступ. Проблема лікування хворих на ішемічний інсульт залишається найбільш актуальною в сучасній неврології, що пояснюється високим відсотком смертності та інвалідизації, при цьому до праці повертається не більше 20 % осіб, які перенесли інсульт [1]. Крім того, продовжує зростати розповсюдженість даної патології. Так, за останні кілька років кількість осіб з цією патологією в Україні збільшилася майже вдвічі [2].

Розвиток ішемії мозку – це багатофакторний фізіологічний процес, який включає зниження енергопродукції з порушенням активного транспорту іонів через мембрани, глутаматну ексайтотоксичність, зростання рівня іонів кальцію в нейронах. На фоні метаболічного ацидозу відбувається гіперпродукція вільних радикалів і активація реакцій оксидативного стресу [5]. Сукупність цих процесів призводить до розвитку інфаркту головного мозку. Тому сучасний церебропротекторний засіб повинен володіти здатністю переривати цей ланцюг патологічних процесів, у тому числі й нормалізувати біоенергетичні процеси та усувати метаболічний ацидоз.

У цьому плані нашу увагу привернули активатори АТФ-залежних калієвих каналів, які, за даними літератури [3], мають значну протекторну дію при ішемії і гіпоксії. Як відомо, мембранні АТФ-залежні калієві канали відкриваються при зменшенні енергоресурсів у клітині, що є одним із факторів захисту клітини в умовах гіпоксії. Тому цілком раціонально активізувати цей процес за допомогою фармакологічних засобів, що і відбувається при застосуванні вказаної групи препаратів, одним із представників якої є нове похідне гуанцидину N-(4-дифторометоксифеніл)-N'-1,2,2-триметилпропіл-N"-ціаногуанідин (флокалін). Дана сполука була розроблена в Інституті органічної хімії НАН України під керівництвом проф. Л.М.Ягупольського. У попередніх дослідженнях доведено, що зазначена сполука має кардіопротекторну дію [3] і активуючий вплив на мозковий кровотік [4]. Крім того, в скринінгових дослідженнях виявлена наявність захисної дії в умовах гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК). У зв'язку з цим стало цікавим дослідити вплив флокаліну на пере-

біг біоенергетичних процесів в ішемізованому мозку. Наведені дані слугували підставою для проведення даного дослідження.

Мета дослідження. Охарактеризувати вплив флокаліну на перебіг біоенергетичних процесів у головному мозку щурів при експериментальній гострій ішемії для з'ясування його можливих механізмів нейропротекторної дії.

Матеріал і методи. Досліди проведено на 42 нелінійних щурах-самцях масою тіла 160-180 г, які були розподілені на чотири групи: 1-а група – інтактні тварини (n=6), 2-а – неліковані щури з ГПМК (n=12) (контроль), 3-я – тварини з ГПМК, ліковані флокаліном (1 мг/кг) (n=12); 4-а – щури з ГПМК, ліковані мексидолом у дозі 100 мг/кг, яка, за даними літератури, має нейропротекторну дію (n=12). ГПМК у щурів моделювали в умовах етамінат-натрієвого (40 мг/кг) наркозу. Лігатуру накладали на ліву загальну сонну артерію до її біфуркації, затягування лігатури проводили через добу в умовах вільної поведінки тварин. Перше уведення досліджуваних сполук проводили через 1 год після відтворення ГПМК. Лікування проводили протягом 14 діб, досліджувані речовини вводили внутрішньоочеревинно двічі на добу. Останнє уведення було за 2-3 години до евтаназії. Дослідження тканин головного мозку проводили на 5-у та 15-у добу експерименту. Після декапітації щурів ішемізовану півкулю головного мозку виділяли в холодовій камері (t=-2°C) і поміщали в рідкий азот. Цитозольну фракцію виділяли методом диференціального центрифугування (15000g). Безбілковий екстракт отримували шляхом додавання точної наважки гомогенату тканини мозку до хлорної кислоти (0,6 M) з подальшою нейтралізацією 5M K₂CO₃.

Стан вуглеводно-енергетичного обміну визначали за рівнем аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ), креатинфосфату (КФ), глікогену, глюкози, лактату і пірувату згідно зі стандартними методиками [6, 7]. Енергетичний заряд розраховували за формулою:

$$\text{Енергетичний заряд} = \frac{2\text{АТФ} + \text{АДФ}}{2(\text{АТФ} + \text{АДФ} + \text{АМФ})}$$

Цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення.

Результати проведеного дослідження показали, що при ГПМК мають місце значні розлади в біоенергетичних процесах у тканинах головного мозку щурів. Це було добре помітно вже на 5-у добу моделювання ГПМК і проявлялося вірогідним зниженням вмісту АТФ і АДФ відповідно на 47% і 27% та зростанням при цьому рівня АМФ на 43 % відносно відповідних показників інтактних тварин. Разом з цим мало місце вірогідне зниження (у середньому на 47,6 %) рівня КФ (див. табл.). На виникнення значного дисбалансу серед аденілових нуклеотидів вказувало також зниження енергетичного заряду в ішемізованому мозку.

Виражене зниження енергетичних ресурсів тканин ішемізованого головного мозку в нелікованих щурів відбувалося на тлі активації реакції анаеробного гліколізу. На це вказувало вірогідне зростання вмісту лактату (на 164 %), зниження рівня пірувату (у середньому на 51 %), а також збільшення показника відношення лактат/піруват більше, ніж у п'ять разів, відносно інтактних тварин. Зазначені зміни в показниках лактату, пірувату та їх співвідношення є ознакою цитоплазматичного ацидозу, що виник на тлі ішемічного ушкодження тканин головного мозку.

На значну деградацію енергетичних ресурсів в ішемізованій півкулі головного мозку на 5-у добу вказувало також вірогідне зниження концентрації глікогену (у середньому на 41 %) та глюкози (у середньому на 45 %).

На 15-у добу експерименту динаміка показників вуглеводно-енергетичних процесів в ішемізованому мозку зберігала аналогічну спрямованість, однак зміни усіх показників були менш виразними, ніж на 5-у добу спостереження. Зазначена динаміка показників біоенергетичного обміну при ГПМК цілком узгоджується зі спостереженнями інших дослідників [8].

Лікувальна дія флокаліну, як і мексидолу, при ішемічному ушкодженні головного мозку в щурів помітна вже на 5-у добу експерименту. Уведення обох речовин на тлі ГПМК сприяло, у першу чергу, усуненню дисбалансу в показниках біоенергетичних процесів. Так, у зазначений термін досліді флокалін, як і референс-препарат, викликав вірогідне зростання рівня АТФ (відповідно на 43 % та 53 %) відносно нелікованих тварин, відмічалось зростання концентрації АДФ на 12 % і 18,2 % та креатинфосфату на 36 % і 52 % відносно контролю, відновлювався енергетичний заряд головного мозку (див. табл.).

У подальшому (15-а доба спостереження) динаміка зазначених показників аденілових нуклеотидів, енергетичного заряду та КФ під впливом досліджуваної сполуки та мексидолу характеризувалась аналогічною з 5-ю добою експерименту спрямованістю. При цьому флокалін за ступенем нормалізуючої дії на зазначені показники біоенергетичних процесів в ішемізованому мозку практично зіставлявся з мексидолом.

Лікування ГПМК за допомогою флокаліну, подібно з мексидолом, супроводжувалося також зменшенням ознак лактат-ацидозу в ішемізованій

Таблиця

Динаміка показників біоенергетичних процесів в ішемізованому мозку щурів на тлі флокаліну (1мг/кг внутрішньоочеревино) та мексидолу (100 мг/кг внутрішньоочеревино) (M±m, n=6)

| | Інтактні щури | Контроль | | Ішемія+флокалін | | Ішемія+мексидол | |
|----------------------|---------------|-------------|-------------|-----------------|-------------|-----------------|-------------|
| | | 5-й день | 15-й день | 5-й день | 15-й день | 5-й день | 15-й день |
| АТФ, мкмоль/г тк | 2,42±0,12 | 1,28±0,12* | 1,72±0,14* | 1,83±0,14*# | 2,14±0,13# | 1,96±0,13*# | 2,31±0,15# |
| АДФ, мкмоль/г тк | 0,45±0,03 | 0,33±0,02* | 0,38±0,03 | 0,37±0,02* | 0,43±0,02# | 0,39±0,02# | 0,46±0,03# |
| АМФ, мкмоль/г тк | 0,14±0,01 | 0,20±0,02* | 0,19±0,02* | 0,19±0,01* | 0,17±0,01* | 0,18±0,01* | 0,16±0,01 |
| Енергетичний заряд | 0,88 | 0,79 | 0,83 | 0,84 | 0,86 | 0,85 | 0,87 |
| КФ, мкмоль/г тк | 2,92±0,19 | 1,53±0,12* | 1,97±0,16* | 2,08±0,14*# | 2,55±0,17# | 2,33±0,15*# | 2,67±0,17# |
| Глікоген, мг/г тк | 1,83±0,18 | 1,28±0,12* | 1,36±0,19 | 0,94±0,11*# | 1,22±0,12* | 0,81±0,12*# | 1,53±0,14 |
| Глюкоза, мкмоль/г тк | 1,58±0,08 | 0,87±0,07* | 1,82±0,13 | 1,28±0,11*# | 1,92±0,12* | 1,43±0,08# | 1,94±0,13* |
| Лактат, мкмоль/г тк | 2,14±0,12 | 5,66±0,36* | 3,78±0,28* | 3,74±0,22*# | 2,92±0,18*# | 3,22±0,24*# | 2,63±0,18*# |
| Піруват, мкмоль/г тк | 0,23±0,01 | 0,11±0,01* | 0,14±0,02* | 0,16±0,02* | 0,19±0,01*# | 0,19±0,02 | 0,21±0,02# |
| Л/П | 9,22±0,82 | 49,61±3,42* | 27,64±5,11* | 23,24±2,33*# | 15,09±1,61* | 17,12±1,48*# | 12,62±1,84# |

Примітки. 1) * – $p \leq 0,05$ відносно інтактних тварин; 2) # – $p \leq 0,05$ відносно відповідного контролю; 3) КФ – креатинфосфат; 4) ТК – тканини мозку; 5) Л/П – лактат / піруват

півкулі головного мозку. Це чітко проявлялось вже на 5-у добу експерименту, коли рівень молочної кислоти на тлі вказаних препаратів знизився відносно нелікованих тварин відповідно на 40 % та 57 % ($p < 0,05$), а вміст пірувату виріс відповідно на 41 % та 65 % ($p < 0,05$). Разом з цим під дією обох препаратів спостерігалось вірогідне зменшення величини показника відношення лактат/піруват відповідно у 2 та 2,9 раза відносно контролю. При цьому статистично вірогідної різниці в дії обох речовин щодо спроможності послаблювати метаболічний ацидоз в ішемізованому мозку в обидва терміни досліджу не виявлено.

Активність флокаліном, як і мексидолом показників енергетичних процесів в ішемізованому мозку відбувалася на тлі вірогідного зростання в ньому вмісту глюкози, що особливо було помітно на 5-у добу експерименту – відповідно на 47 % та 64 %, відносно нелікованих тварин. Зростання рівня глюкози в клітинах ішемізованого мозку під дією обох досліджуваних речовин у зазначений період досліджу корелювало зі зменшенням запасів глікогену, що вказує на посилення процесів глікогенолізу. Наприкінці експерименту зазначені закономірності вмісту глюкози та глікогену на тлі уведення флокаліну та мексидолу зберегались, однак були менш виразними, ніж на 5-у добу спостереження (див. табл.).

Таким чином, характеризуючи результати проведеного дослідження, можна зазначити, що курсове (14 днів) уведення в організм шурів з ГПМК флокаліну (5 мг/кг), як і мексидолу (100 мг/кг), супроводжується нормалізацією показників біоенергетичних процесів в ішемізованому мозку. Це проявлялось послабленням дисбалансу в складі аденілових нуклеотидів, зростанням показника енергетичного заряду мозку та рівня КФ. Паралельно з цим мало місце усунення ознак метаболічного ацидозу в ішемізованих тканинах мозку наприкінці експерименту. Це, ймовірно, є одним із механізмів нейропротекторного ефекту цієї сполуки в умовах ГПМК, оскільки саме ці фактори патогенезу ГПМК є найбільш визначальними у виникненні та розмірах некрозу мозку [5].

Повної нормалізації всіх показників біоенергетичних процесів в умовах ГПМК під впливом обох досліджуваних речовин не досягнуто. Оскільки статистично вірогідна різниця в дії флокаліну та мексидолу відсутня, можна вважати, що за величиною лікувальної дії при ГПМК флокалін у дозі 1 мг/кг практично зіставляється з мексидолом у дозі 100 мг/кг. Різниця в дозах досліджуваних речовин свідчить про значну перевагу флокаліну над мексидолом в їх активності.

Висновки

1. Курсове (14 днів) лікування гострого порушення мозкового кровообігу в шурів флокаліном (1 мг/кг внутрішньоочеревинно), як і мексидолом (100 мг/кг внутрішньоочеревинно) сприяє усуненню дисбалансу аденілових нуклеотидів та креатинфосфату, зниженню метаболічного ацидозу та зростанню вмісту глюкози в ішемізованому головному мозку.

2. За величиною нормалізуючого впливу на біохімічні процеси в умовах ГПМК флокалін (1 мг/кг) зіставляється з мексидолом (100 мг/кг).

Перспективи подальших досліджень. Результати проведеного дослідження вказують на доцільність поглибленого вивчення фармакологічних властивостей флокаліну на предмет створення нового вітчизняного церебропротектора.

Літератури

1. Зозуля І.С. Гострий період ішемічного інсульту: сучасний погляд на проблему / І.С.Зозуля, О.П.Мошенська // Укр. мед. часопис. – 2009. – № 4 (72). – С. 67-73.
2. Міщенко Т.С. Стан неврологічної служби в Україні / Т.С.Міщенко // Здоров'я України. – 2007. – № 9 (166). – С. 9.
3. Організація промислового виготовлення препарату флокалін – нового вітчизняного міотропного спазмолітика і кардіопротектора / О.О.Мойбенко, Р.Б.Струтинській, Л.М.Ягупольський [та ін.] // Наука та інновації. – 2009. – Т. 5, № 1. – С. 80-84.
4. Пат. України на корисну модель №27127, МПК А61К 31/055. Застосування N-(4-дифторометоксифеніл)-Nε-1,2,2-триметилпропіл-N''-ціаногuanідину (флокаліну) як засобу зі стимулюючою дією на мозковий кровотік / Степанюк Г.І., Ходаківський О.А., Денисюк О.М. [та ін.]; заявник та патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова. ¾ № U2007701370; заявл. 09.02.2007; опубл. 25.10.2007, Бюл. № 17. – 3 с.
5. Гусев Е.И. Ишемия головного мозга / Е.И.Гусев, В.И.Скворцова. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.
6. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике / В.В.Меньшиков – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
7. Прохорова М.И. Современные методы биохимических исследований / М.И.Прохорова. ¾ Л.: Из-во Ленинградского ун-та, 1982. – 272 с.
8. Рациональная нейропротекция / И.Ф.Беленичев, В.И.Черный, Ю.М.Колесник [и др.]. – Донецк: Издательство Заславский А.Ю., 2009. – 262 с.

**РАВНИТЕЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ ФЛОКАЛИНА И МЕКСИДОЛА НА ТЕЧЕНИЕ
БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ОСТРОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

О.М.Денисюк

Резюме. Экспериментально установлено, что 14-дневное внутривентральное введение N-(4-дифторометокси-фенил)-N'-1,2,2-триметилпропил-N''-цианогуанидина (флокалин) дважды в день в дозе 1 мг/кг, как и мексидола (100 мг/кг), способствовало нормализации нарушенных показателей биоэнергетического метаболизма в ишемизированном головном мозге: восстанавливалось содержание адениловых нуклеотидов и креатинфосфата на фоне снижения метаболического ацидоза и роста содержания глюкозы. Это четко проявилось уже на 5-ый день наблюдения. По величине терапевтического эффекта в заданных условиях эксперимента флокалин сопоставлялся с мексидолом.

Ключевые слова: острое нарушение мозгового кровотока, флокалин, мексидол, биоэнергетические процессы.

**A COMPARATIVE INFLUENCE OF FLOKALIN AND MEXIDOL ON THE COURSE
OF BIOENERGETIC PROCESSES IN ACUTE EXPERIMENTAL CEREBRAL ISCHEMIA**

О.М.Денисюк

Abstract. It was established experimentally that a 14 day intraperitoneal introduction of N-(4-difluoromethoxyphenyl)-N'-1,2,2-trimethylpropyl-N''-cyanoguanidine (flokalin) twice a day in a dose of 1 mg/kg, as well as mexidol (100 mg/kg), contributed to a normalization of disturbed indices of bioenergetic metabolism in ischemized brain: the content of adenylic nucleotides and creatine phosphate reduced against a background of a reduction of metabolic acidosis and an elevation of the glucose content. It was clearly evident already on the 5th day of the observation. Based on the value of the therapeutic effect under the desired conditions of the experiment flokalin was compared with mexidol.

Key words: sharp disturbance of cerebral blood flow, flokalin, mexidol, bioenergetic processes.

M.I.Pyrohov National Medical University (Vinnytsia)

Рецензент – проф. І.І.Заморський

Buk. Med. Herald. – 2011. – Vol. 15, № 1 (57). – P. 131-134

Надійшла до редакції 15.11.2010 року