

О.В.Садовник, О.В.Шевчук, В.Д. Лук'яничук, професор

ВПЛИВ КОРВІТИНУ НА ПАРАМЕТРИ БІОХІМІЧНОЇ ДЕТОКСИКАЦІЇ У ТВАРИН З МЕХАНІЧНОЮ ТРАВМОЮ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Луганський державний медичний університет

Відомо, що посттравматична гіпоксія, яка виникає на тлі закритої черепно-мозкової травми (ЗЧМТ), сприяє підвищенню проникності гематоенцефалічного бар'єру, що відіграє значну роль у розвитку ендогенної інтоксикації травматичного генезу внаслідок реторбції продуктів тканинного розпаду з вогнищ контузії головного мозку і порушення обмінних процесів в організмі в цілому. Це, в свою чергу, веде до накопичення різних ендогенних проміжних та кінцевих продуктів метаболізму, котрі є вторинними ендотоксинами [1-6]. Виходячи з того, що в патогенезі нейродегенеративних захворювань різного генезу, в т.ч. і ЗЧМТ, центральне місце займають нейрометаболическі порушення в нейронах, котрі потребують оптимальної та своєчасної фармакологічної корекції, необхідним вважається включення до патогенетичної терапії цього екстремального стану засобів, які відрізняються полівекторністю фармакодинамічних ефектів. До таких засобів належить кверцетин, на основі якого створено новий біофлавоноїдвмісний препарат — корвітин. Оскільки в патогенезі травматичного пошкодження головного мозку важлива роль належить процесам природної детоксикації, необхідно оцінити характер впливу корвітину на стан знешкоджуючої системи організму при цій патології, що і було метою нашого дослідження.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведені на білих нелінійних щурах обох статей масою 160-180 г в лабораторії кафедри фармакології Луганського державного

медичного університету у відповідності з методичними рекомендаціями ДФЦ [7].

Експериментальною моделлю слугував патологічний процес, що розвивається на тлі ЗЧМТ, яку моделювали за допомогою спеціального пристрою власної оригінальної конструкції [8].

Всі тварини були поділені на 4 групи: інтактну, контрольну, дослідну та референтну. Щурям дослідної серії корекцію порушень проводили корвітином (ЗАТ НВЦ "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод", Україна) за умов його внутрішньоочеревинного введення у вигляді 1% водного розчину в дозі 100 мг/кг: в першу добу — через 30 хв після нанесення дозованого удару, а в наступні 5 діб — щоденно однократно в ранковій годині. В якості препарату порівняння було обрано ноотропіл (ЮСБ С.А. Фарма Сектор, Бельгія), котрий тварини референтної групи одержували у вигляді 5% розчину в дозовому режимі, аналогічному корвітину. Контрольній серії щурів внутрішньоочеревинно вводили еквіоб'ємну кількість 0,9% розчину натрію хлориду.

Стан детоксикації печінки оцінювали по активності її НАДФН-залежної монооксигеназної гідроксильуючої системи. Про інтенсивність процесів метаболізму судили по виведенню основних метаболітів тест-препарату — амідопіріну (4-аміноантипіріну (4-ААП) N-ацетил-4-аміноантипіріну (N-ацетил-4-ААП) з сечею за методом [9].

Стан функціональної активності монооксигеназної гідроксильуючої системи печінки аналізували також

за тривалістю сну, викликаного внутрішньоочеревинним введенням тіопенталу (1% водний розчин) в дозі 35 мг/кг [10].

Для оцінки ступеню вираженості посттравматичної ендогенної інтоксикації визначали концентрацію її основних маркерів — молекул середньої маси (МСМ) спектрофотометричним методом [11].

Всі показники вивчали в динаміці: через 1, 3 і 6 діб з моменту нанесення ЗЧМТ.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою t-критерію Ст'юдента з використанням комп'ютерної програми "Statgraphics" [12].

Результати та їх обговорення

В умовах досліджуваного екстремального стану у контрольних тварин значно пригнічуються реакції першої фази біотрансформації, про що свідчить різке зниження швидкості екскреції аналізованого продукту N-деметилування з максимальними змінами на першу добу гострого посттравматичного періоду (табл. 1).

Так, через 6 і 24 год після введення амідопіріну рівень 4-ААП в контролі на 42,4% и 38%, відповідно, нижче у порівнянні з інтактною серією. У подальшому простежується деяка тенденція до прискорення виведення 4-ААП з організму, проте, навіть на 6 добу концентрація цього метаболіту в сечі щурів із травматичним пошкодженням головного мозку залишається вірогідно низькою як на 6-, так і на 24-год відмітках дослідження, і складає 88,2% та 84,5%, відповідно, від значень в групі "здорових" тварин (табл. 1).

Аналогічна ситуація має місце і при визначенні продукту другої фази біотрансформації тест-препарату (амідопіріну) — N-ацетил-4-ААП. Як видно з наведених в табл. 1 даних, екскреція даного метаболіту з сечею щурів максимально пригнічена в першу добу від початку моделювання ЗЧМТ, а саме: на 50,2% і 30,9%, відповідно, через 6 та 24 год (після проведення амідопіринового навантаження), порівняно з інтактною групою.

В подальшому (3 та 6 доб) відмічається незначне підвищення екскреції N-ацетил-4-ААП, проте концентрація кон'югованого з ацетатом метаболіту амідопіріну в сечі

контрольної серії тварин залишається вірогідно нижчою, ніж у інтактних шурів.

Отже, в умовах ЗЧМТ відбувається виражене пригнічення ферментної монооксигеназної системи на етапах як N-деметилування, так і при кон'югації з аніоном ацетату.

Так, встановлено, що введення корвітину при цій патології супроводжується підсиленням екскреції з сечею продукту реакції першої фази біотрансформації (4-ААП) у всі терміни спостереження (з піками на 6-год відмітках), а саме: на 1-у доб посттравматичного періоду — в 1,5 рази, на 3-ю — в 1,9 рази, а на 6-у — в 1,92 рази, порівняно із значеннями в контрольній групі тварин (табл. 1). Важливо підкреслити, що в дослідній серії концентрація 4-ААП в сечі вже на 3-ю добу після нанесення травми вірогідно не відрізняється від такої в інтактній серії, а на 6 значно перевершує показники у "здорових" шурів, а саме: через 6 год після введення амідопірину — на 41%, через 24 — на 31%.

Схожа картина реєструється і

при аналізі концентрації іншого метаболіту амідопірину — N-ацетил-4-ААП. Так, застосування корвітину підвищує швидкість екскреції даного продукту з сечею порівняно з контрольною серією: через 1 доб після травматичного пошкодження головного мозку в 1,4 рази, на 3 — в 1,5 рази, а на 6 — в 1,3 рази. Починаючи з 3-доб відмітки дослідження екскреція N-ацетил-4-ААП не відрізняється від величин у "здорових" тварин (табл. 1).

Корвітин має більш виражену здатність інтенсифікувати процеси детоксикації ксенобіотиків і прискорювати екскрецію його метаболітів з сечею, порівняно з референтним препаратом (ноотропілом), що стає особливо помітним на етапі N-деметилування (табл. 1).

Таким чином, корвітин проявляє властивості індуктора цитохрому Р-450. Крім того, він може перешкоджати деградації цього цитохрому.

З метою експериментального підтвердження тези про можливу індукуючу активність корвітину відносно цитохрому Р-450 в окремій серії дослідів було проаналізовано

вплив препарату на тривалість тіопенталового сну за умов механічного пошкодження головного мозку. Одержані результати представлені в табл. 2.

Як видно, в контролі тривалість тіопенталового сну шурів вірогідно ($P<0,001$) збільшується (в середньому на 50,6 %) на протязі всього періоду спостереження (6 діб), порівняно із значеннями, що ідентифікуються в інтактній групі. Це свідчить про глибокі порушення функціонування ферментів монооксигеназної системи при ЗЧМТ.

На тлі застосування корвітину простежується істотне зменшення тривалості сну тварин під впливом натрію тіопенталу, а саме: через 1 доб після моделювання травми — на 48,0 %; на 3 — на 53,4 %, а на 6 — на 48,9 %, порівняно з контрольною серією. На 6 доб тривалість сну в дослідній групі шурів на 12,1% коротше, ніж в інтактній, і ці відмінності носять достовірний характер (табл. 2). Це може бути обумовлено інтенсифікацією процесів метаболізму в організмі тварин з

Таблиця 1

Вплив корвітину на динаміку екскреції 4-ААП та N-ацетил-4-ААП з сечею шурів при ЗЧМТ ($M\pm m$; $n=7$)

Терміни дослідження		Групи тварин			
доб після початку травми	год після навантаження амідопірином	Інтактна	Контрольна	Дослідна	Референтна
4-ААП (мкмоль/мл)					
1	6	1,70±0,02	0,98±0,05*	1,46±0,08*/**	1,44±0,06*/**
	24	0,71±0,01	0,44±0,03*	0,63±0,04**	0,56±0,04*/**
3	6	—	0,99±0,03*	1,88±0,10**	1,65±0,03**
	24	—	0,54±0,03*	0,77±0,04**	0,66±0,03**
6	6	—	1,50±0,07*	2,88±0,11*/**/**	2,27±0,10*/**
	24	—	0,60±0,04*	0,84±0,04*/**	0,78±0,04**
N-ацетил-4-ААП (мкмоль/мл)					
1	6	11,36±0,50	5,66±0,16*	8,93±0,30*/**	8,13±0,40*/**
	24	4,86±0,20	3,36±0,10*	3,63±0,08*/**	3,27±0,08*
3	6	—	8,40±0,40*	11,05±0,15**/**	9,99±0,16*/**
	24	—	2,79±0,08*	4,35±0,10**/**	4,00±0,09*/**
6	6	—	9,20±0,23*	11,76±0,27**/**	10,88±0,18*/**
	24	—	3,63±0,08*	4,82±0,02**	4,84±0,17**

Примітки: 1. * — $P<0,05$ порівняно з інтактними тваринами;

2. ** — $P<0,05$ порівняно з контролем;

3. *** — $P<0,05$ порівняно з референтними тваринами.

Вплив корвітину на тривалість тіопенталового сну (хв)
у щурів із ЗЧМТ (n=7)

Групи тварин	Стат. показник	Терміни дослідження (доб)		
		1	3	6
Інтактна	$M \pm m$	18,43 0,57		
Контрольна	$M \pm m$	47,16	36,27	31,71
	P_1	1,60 <0,001	1,61 <0,001	1,10 <0,001
Дослідна	$M \pm m$	24,50	16,91	16,20
	P_1	0,90 <0,001	0,61 >0,05	0,51 <0,05
	P_2	<0,001	<0,001	<0,001
	P_3	>0,05 <0,001	<0,001	<0,01
Референтна	$M \pm m$	26,70	21,99	20,23
	P_1	0,60 <0,001	0,60 <0,01	0,99 >0,05
	P_2	<0,001	<0,001	<0,001

Примітки: P_1 — порівняно з інтактними тваринами; P_2 — порівняно з контрольною групою; P_3 — порівняно з референтною групою.

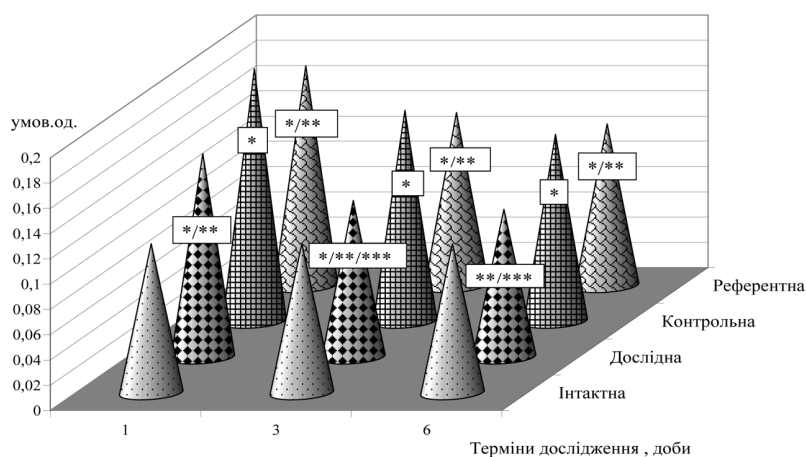


Рисунок. Вплив корвітину на рівень МСМ в організмі щурів із ЗЧМТ.

Таблиця 2

ЗЧМТ, що реалізується шляхом підвищення функціональної активності знешкоджуючої системи організму, зокрема за рахунок збільшення кількості кінцевого акцептора електронів мітосомального ланцюга — цитохрому Р-450.

В подальшому ми вивчали вплив корвітину на динаміку вмісту універсального маркера ендогенної інтоксикації — МСМ. Згідно даних, представлених на рисунку, максимальні значення концентрації МСМ визначаються на 1 доб після відтворення ЗЧМТ, що, в 1,7 рази перевищує такий в інтактній серії. Надалі простежується тенденція до зниження концентрації МСМ, проте їх рівень в сироватці крові контрольних тварин залишається високим і вірогідно відрізняється від аналогічного в групі "здорових" тварин.

Введення корвітину сприяє суттєвому та вірогідному, порівняно з контролем, зниженню вмісту МСМ впродовж всього терміну спостереження (рис.).

По цьому показнику детоксуюча ефективність корвітину в умовах посттравматичного ендотоксикозу в середньому на 10,6% вище, ніж на тлі застосування ноотропілу.

Таким чином, отримані результати свідчать, що корвітин здатен модифікувати перебіг реакцій I і II фаз біотрансформації в умовах ЗЧМТ, ймовірно, шляхом протекторної дії у відношенні оксидоредуктаз змішаної функції, що входять до складу монооксигеназної системи печінки, а також усувати прояви синдрому посттравматичної ендогенної інтоксикації за рахунок зниження рівня його основних маркерів (МСМ) в сироватці крові дослідних тварин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Нетюхайло Л.Г. Молекули середньої маси — маркери ендогенної інтоксикації при експериментальній опіковій хворобі // Совр. пробл. токсикол. — 2005. — № 3. — С. 57-58.
2. Шейман Б.С., Трешинский А.И. Взгляд на проблему токсикоза и интоксикации // Совр. пробл. токсикол. — 2001. — №1. — С. 3-10.
3. Лук'янчук В.Д., Шевчук О.В. Фармакокорекція γ -ліпоевою кислотою процесів енергозабезпечення у щурів із закритою черепно-мозковою травмою // Ліки. — 2006. — № 1-2. — С. 57-64.
4. Шевчук О.В. Експериментальне обґрунтування доцільності застосування γ -ліпоевої кислоти при закритій черепно-мозковій травмі / Автореф. дис. ...канд. мед. наук. — К., 2007. — 21с.
5. Карякина Е.В., Белова С.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) // Клин. лаб. диагн. — 2004. — № 3. — С. 3-8.
6. Иванов Д.Е., Пучиньян Д.М., Нинель В.Г. и др. Особенности изменения активности оксидоредуктаз, содержания малонового диальдегида и молекул средней массы в крови больных с черепно-мозговой травмой различной степени тяжести // Там же. — 2001. — № 5. — С. 40-41.
7. Доклинические исследования лекарственных средств: Методические рекомендации / Под ред. Стефанова А.В. — К., 2002. — 567 с.
8. Патент України № 13678. Спосіб моделювання черепно-мозкової травми / Лук'янчук В.Д., Шевчук О.В., Бадінов О.В. -Опубл. 17.04.06, Бюл. №4 — 10 с.
9. Леоненко О.В., Попов Т.А. Оценка

НАДФ-зависимой монооксигеназной гидроксилирующей ферментативной системы печени у лабораторных животных на уровне целостного организма (метод. Рекомендации) / — Киев: ВНИИ ГИНТОКС, 1981. — 9 с.

10. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів. (методичні рекомендації) / Під ред. Коцюмбаса І.Я. — Львів: Тріада плюс, 2006. — 360 с.
11. Первушин Ю.В., Бондар Т.П. Лабораторные методы диагностики

синдрома эндогенной интоксикации. (методические рекомендации). — Ставрополь, 1993. — 86 с.

12. С. Гланц Медико-биологическая статистика / Пер с англ. — М.: Практика, 1999. — 459 с.

О.В.Садовник, О.В.Шевчук, В.Д. Лукьянчук

O.V.Sadovnik, O.V.Shevchuk, V.D. Lukjanchuk

ВЛИЯНИЕ КОРВИТИНА НА ПАРАМЕТРЫ БИОХИМИЧЕСКОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ У ЖИВОТНЫХ С МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМОЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Установлено, что корвитин способен модифицировать течение реакций I и II фаз биотрансформации в условиях моделируемой патологии, вероятно, путем протекторного действия на ферменты монооксигеназной системы печени, а также устранять проявления синдрома эндогенной интоксикации за счет снижения уровня его основных маркеров (молекул средней массы) в сыворотке крови опытных животных.

INFLUENCE OF CORVITINUM ON PARAMETERS OF BIOCHEMICAL DETOXICATION AT ANIMALS WITH MECHANICAL TRAUMA OF BRAIN

Thus, information is got in the experiment ground all to assert that corvitinum owns to modify the reactions I and II phases of biotransformation in the conditions of the designed form of traumatic disease, by protector action in the relation of the oxidoreductase with mixed function, that enter in the complement of the monooxygenase system of liver, and also, to remove to the syndrome of posttraumatic endogenous intoxication due to the decline of level of his basic markers (molecules of middle mass) in the whey of blood of experimental animals.