

Г. І. Степанюк¹, Л. І. Маринич¹, О. А. Ходаківський¹,
С. І. Коваленко², Г. Г. Берест²

Вплив похідного 6-заміщених 3R-2H-[1,2,4] триазино [2,3-с]хіназолін-2-онів (сполуки МТ-279) на стан кислотно-лужної рівноваги та рівень Ca^{2+} у крові гербел з моделлю гострого порушення мозкового кровообігу

¹Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

²Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: гостре порушення мозкового кровообігу, похідні 6-заміщених 3R-2H-[1,2,4]триазино [2,3-с]хіназолін-2-онів, мексидол, кислотно-лужна рівновага

Серед хвороб нервової системи, які значно погіршують якість життя людства, ішемічний інсульт уособлює та символізує особливу трагедійність, і являється однією з найчастіших причин інвалідності та смертності населення у світі [4].

Ключове місце в патогенезі ішемічного інсульту посідає гіпоксія тканин, яка разом з енергодефіцитом призводить до порушення показників кислотно-лужної рівноваги, що у свою чергу викликає розширення зони некрозу [2, 6, 7, 13]. Саме тому корекція показників кислотно-лужної рівноваги (КЛР) при ішемічних ураженнях головного мозку є одним з основних напрямів сучасної фармакотерапії гострих порушень мозкового кровообігу (ГПМК) [3, 11]. Разом із цим відомо, що в основі розвитку некрозу на тлі ішемії мозку лежить запуск глутамат-кальцієвого каскаду, що в кінцевому результаті призводить до внутрішньоклітинного накопичення іонів Ca^{2+} , створюючи перевантаження мітохондрій із порушенням окиснюваного фосфорилування та посиленням катаболічних процесів [5, 15, 17].

Тому на думку багатьох провідних учених, корекція КЛР, як і відновлення біоенергетичних процесів у нейронах, є одним з основних патогенетич-

них механізмів захисту нервових клітин від ішемії та гіпоксії [10, 13, 14].

У попередніх дослідженнях нами було встановлено, що похідне 6-заміщених 3R-2H-[1,2,4]триазино [2,3-с]хіназолін-2-онів (сполука МТ-279) має виразний церебропротекторний ефект на моделі двобічної оклюзії загальних сонних артерій у ненаркотизованих щурів [9]. Це проявлялось вірогідним зниженням показника летальності досліджуваних тварин у критичний період експерименту та відстроченням їхньої загибелі.

У зв'язку з цим представляло інтерес дослідити вплив сполуки МТ-279 на стан КЛР та рівень Ca^{2+} в крові за умов експериментального ішемічного інсульту в порівнянні з мексидолом, який на тепер широко застосовується як церебропротекторний засіб при даній патології [1, 12].

Мета роботи – охарактеризувати вплив сполуки МТ-279 у порівнянні з мексидолом на стан КЛР і рівень Ca^{2+} в крові при ГПМК.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 28 статевозрілих монгольських піщанках (гербелах) масою 42–53 г, розподілених на 4 групи по 7 тварин у кожній. ГПМК моделювали шляхом однобічної перев'язки правої загальної сонної артерії через 20 хв після виходу тварин з наркозу. Лігатури під судини підводили під пропофоловим (60 мг/кг, внутрішньоочеревинно (в/о) наркозом. І групу становили псевдооперовані тварини, яким після підведення лігатури не проводили оклю-

зію загальної сонної артерії; II групу – тварини з ГПМК без лікування (контроль). У III та IV групах монгольських піщанок із ГПМК лікували відповідно сполукою МТ-279 (10 мг/кг, в/о) або мексидолом (100 мг/кг, в/о), які вводили тричі з інтервалом між введеннями 8 год протягом доби. Перше введення виконували через 20 хв після оклюзії загальної сонної артерії. Контрольна група отримувала аналогічним чином еквівалентну кількість 0,9 % фізіологічного розчину натрію хлориду (2 мл/кг, в/о). МТ-279 та мексидол досліджували в оптимальних дозах, запозичених з літератури [11].

Через 8 год після останнього введення речовин проводили забір крові ($V = 0,4-0,5$ мл) у шприц з гепарином (0,05 мл) шляхом прямої візуальної пункції яремної вени на боці ураження. Забранний матеріал поміщали в термос із льодом ($t = 3-4$ °С). Дослідження показників КЛР проводили протягом 15 хв з моменту пункції на апараті мікро-Аступ фірми «Radiometer» (Данія). Ефективність лікування оцінювали за динамікою рівнів рН крові, парціального тиску вуглекислого газу (pCO_2), АВ (істинний бікарбонат), ВВ (сума всіх буферних систем крові), SB (стандартний бікарбонат), VE (дефіцит буферних основ) та рівня Ca^{2+} у сироватці крові. Статистичну обробку цифрових даних проводили методом варіаційної статистики з визначенням t -критерію Стьюдента. Зміни показників вважали вірогідними при $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Отримані дані представлені на рисунках 1, 2 та 3. Проведене дослідження показало, що у групі нелікованих тварин з ГПМК через добу після моделювання патологічного стану мали місце зміни показників КЛР, що за даними літератури [16, 18] можна характеризувати як ознаки декомпенсованого змішаного ацидозу (метаболічного та дихального) в ішемізованій півкулі головного мозку. На це вка-

зувало, перш за все, вірогідне зменшення показника рН венозної крові в контрольних гербел у середньому до $6,99 \pm 0,03$ проти $7,22 \pm 0,01$ у псевдооперованих тварин. Згідно з точкою зору вищезазначених дослідників, рН крові є величиною постійною, і лікування цього показника всього на 0,3–0,4 одиниці в будь-який бік, особливо в структурах головного мозку, де швидкість перебігу всіх метаболічних процесів напряму залежить від сталості КЛР, може призвести до незворотних змін у нейронах (запуск процесів перекисного окиснення ліпідів, окисної модифікації білків, апоптозу, некрозу та ін.).

Даний ацидоз є метаболічним, на що вказувало вірогідне відносно до псевдооперованих тварин зменшення концентрації буферних основ, а саме: АВ, SB, ВВ та VE у середньому відповідно на 44,1; 43,8; 28,7 та 188,8 % (рис. 1).

На метаболічний характер ацидозу вказували також зсув рН крові в кислий бік та дефіцит буферних основ (VE). Поряд із цим, у нелікованих тварин з ГПМК мало місце вірогідне відносно псевдооперованих тварин підвищення рівня pCO_2 у середньому на 15,2 %, що, згідно з точкою зору [8, 12], може бути ознакою як виснаження компенсаторних можливостей дихальної системи (некомпенсований ацидоз), так і розвитку диспное за рахунок порушення діяльності дихального центру вна-

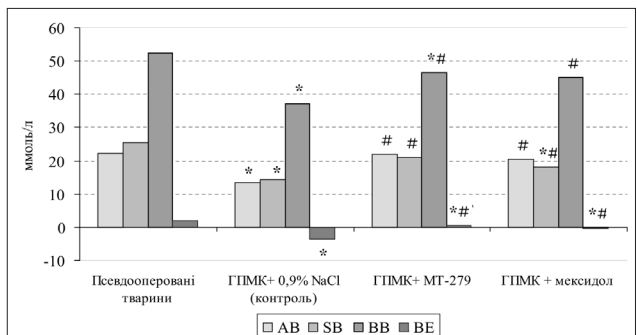


Рис. 1. Показники кислотно-лужної рівноваги в крові гербел з ГПМК на тлі лікування сполукою МТ-279 (10 мг/кг, в/о) та мексидолом (100 мг/кг, в/о) ($M \pm m$, $n = 7$).

Примітка. * $P \leq 0,05$ відносно псевдооперованих тварин;

$P \leq 0,05$ відносно контролю;

** $P \leq 0,05$ відносно мексидолу.

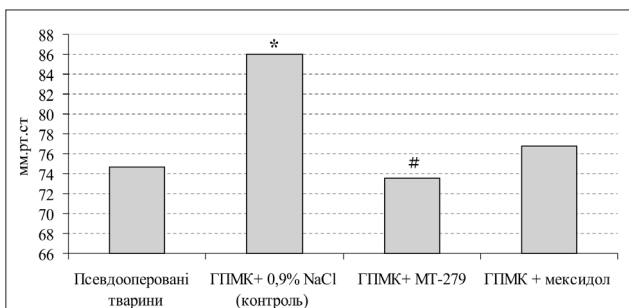


Рис. 2. Показники парціального тиску вуглекислого газу (pCO_2) у крові гербел з ГПМК на тлі лікування сполукою МТ-279 (10 мг/кг, в/о) та мексидолом (100 мг/кг, в/о) ($M \pm m$, $n = 7$).

Примітка. * $P \leq 0,05$ відносно псевдооперованих тварин; # $P \leq 0,05$ відносно контролю;

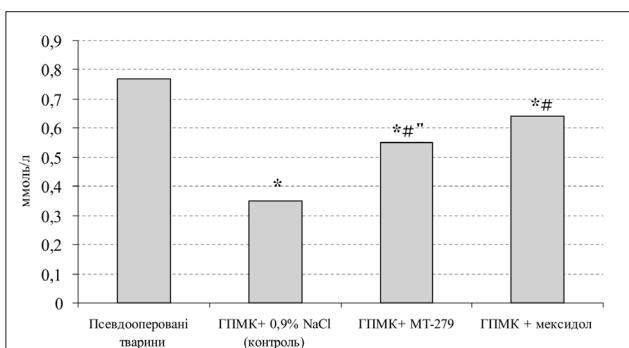


Рис. 3. Показники рівня Ca^{2+} у крові гербел з ГПМК на тлі лікування сполукою МТ-279 (10 мг/кг, в/о) та мексидолом (100 мг/кг, в/о) ($M \pm m$, $n = 7$).

Примітка. * $P \leq 0,05$ відносно псевдооперованих тварин; # $P \leq 0,05$ відносно контролю; ## $P \leq 0,05$ відносно мексидолу.

слідок глобальної ішемії головного мозку.

Уведення гербелам з ГПМК сполуки МТ 279 (10 мг/кг) так само, як і мексидолу (100 мг/кг), вірогідно перешкоджало розвитку ознак ацидозу. Так, на тлі застосування даних речовин рН крові через 24 год після моделювання патології становив у середньому відповідно $7,21 \pm 0,02$ та $7,17 \pm 0,01$, не відрізняючись практично від значення даного показника у псевдооперованих тварин. Разом з цим на тлі лікування МТ-279, як і мексидолом, поряд із відновленням рівня рН крові, відмічалась нормалізація рівнів pCO_2 та буферних основ (рис. 1 та 2). Так, під впливом зазначених речовин, показник концентрації pCO_2 у венозній крові, що відті-

кала від ішемізованої півкулі гербел з ГПМК, статистично не відрізнявся від відповідного показника в псевдооперованих тварин. При цьому, на тлі МТ-279, як і під дією мексидолу, мало місце відновлення рівнів буферних основ АВ, SB, ВВ та ВЕ, що за величиною наближалося до фонових показників псевдооперованих тварин. Слід зазначити, що під впливом сполуки МТ-279 дефіцит буферних основ (ВЕ) був достовірно меншим, ніж під впливом мексидолу ($P \leq 0,05$). Зазначені зміни показників КЛР, викликані МТ-279 та мексидолом у крові гербел з ГПМК, на нашу думку, можуть свідчити про нормалізацію цими речовинами метаболічних процесів в ішемізованій півкулі та послаблення явищ ацидозу. Останній, як відомо, є тригерним фактором розвитку процесів оксидативного стресу, які у свою чергу, у кінцевому результаті призводять до загибелі нейрону як структурно-функціональної одиниці нервової тканини головного мозку [5, 8].

У ході даного експерименту було також встановлено, що субтотальна ішемія головного мозку в нелікованих гербел призводить до розвитку гіпокальціємії (рис. 3). Так, через 24 год у нелікованих тварин із ГПМК у венозній крові на боці ураження рівень Ca^{2+} був у 2,2 разу меншим порівняно із псевдооперованими тваринами ($P \leq 0,05$). Така динаміка досліджуваного іону в крові може свідчити про розвиток глутаматної «ексайтотоксичності» і надмірне накопичення та депонування Ca^{2+} у нейронах.

Лікувальне введення гербелам з ГПМК сполуки МТ 279 (10 мг/кг), як і мексидолу (100 мг/кг), перешкоджало розвитку гіпокальціємії: наприкінці курсу терапії рівень Ca^{2+}

у крові на тлі введення вказаних речовин був вищим відносно нелікованих тварин відповідно на 57 та 83 %, наближаючись до рівня псевдооперованих тварин.

Отримані дані щодо змін рівня Ca^{2+} можуть вказувати на те, що введення МТ-279, як і мексидолу, монгольським піщанкам з ішемією головного мозку зменшує явища глутаматної «ексайтотоксичності» протягом першої доби експерименту. Така дія досліджуваних речовин, на наш погляд, може сприятливо позначатись на розмірах зони ушкодженої ділянки головного мозку і свідчить про наявність у них церебропротекторного ефекту.

Таким чином, оцінюючи результати проведеного дослідження, можна зазначити, що похідному 6-заміщених 3R-2H-[1,2,4]триазино [2,3-с]хіназолін-2-онів (сполучі – МТ-279) притаманна захисна дія на ішемізований головний мозок, що проявлялася нормалізацією показників КЛР та рівня Ca^{2+} у крові. Зазначені властивості досліджуваної сполуки, імовірно,

лежать в основі механізму її церебропротекторного ефекту.

Висновки

1. Лікувальне, тричі протягом доби, введення в організм гербел з однією порцією перев'язкою СА сполуки МТ-279 (10 мг/кг), як і мексидолу (100 мг/кг), викликає нормалізацію показників КЛР у крові, що відтікає із ішемізованої півкулі головного мозку.
2. Експериментальна терапія монгольських піщанок з ГПМК досліджуваними речовинами сприяє нормалізації рівня кальціємії.
3. За здатністю нормалізувати порушені показники КЛР та рівень кальціємії за умов ГПМК протягом першої доби сполука МТ-279 (10 мг/кг, в/о) співставляється з мексидолом (100 мг/кг, в/о).
4. Спроможність обох речовин зменшувати явища ацидозу та перешкоджати появі гіпокальціємії може свідчити про наявність у них нейропротекторного ефекту.

1. Антигипоксантное действие фитоносоида, силимара и мексидола после гипоксической гипоксии у крыс / Н. В. Кондакова, Л. Б. Стрелкова, М. Ф. Минева [и др.] // Человек и лекарство: XV конгр., 14–18 апреля 2006.: матер. конф.– Москва, 2006.– С. 639.
2. Биленко М. В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов / Биленко М. В.– М.: Медицина, 1989.– 368 с.
3. Викторов И. В. Роль оксида азота и других свободных радикалов в ишемической патологии мозга / И. В. Викторов // Вестн. РАМН.– 2000.– № 4.– С. 5–9.
4. Вінничук С. М. Нейропротекція в гострий період мозкового інсульту: аналіз причин неефективності нейропротекторів при клінічних випробуваннях / С. М. Вінничук // Укр. мед. часопис.– 2008.– № 3 (65).– С. 4–11.
5. Гусев Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова – М.: Медицина, 2001.– 328 с.
6. Експериментальні моделі ішемії головного мозку у фармакологічних дослідженнях / І. Ф. Беленічев, С. В. Горбачова, Н. В. Бухтіярова [та ін.] // Ліки.– 2006.– № 3–4.– С. 13–19.
7. Оглобина М. В. Фармакокорекція прооксидантно-антиоксидантного состояния производными тиазолидинового ряда в условиях острой цереброваскулярной недостаточности / М. В. Оглобина // Акт. питання фармакології: 4 науково-практична конференція з клінічної фармакології. Матеріали. Вінниця, 2004.– Ч. 2.– С. 103–104.
8. Рациональная нейропротекция / И. Ф. Беленичев, В. И. Черный, Ю. М. Колесник [та ін.]– Донецк.– Издатель Заславский А. Ю, 2009.– 261 с.
9. Степанюк Г. І. Скринінг церебропротекторної дії серед нових похідних 1,2,4 триазинохіназоліну в умовах гострої експериментальної ішемії головного мозку / Г. І. Степанюк, Л. І. Маринич, Г. Г. Берест, С. І. Коваленко // Фармакологія та лікарська токсикологія.– 2010.– № 1–2 (14–15).– С. 75–78.
10. Сучасні принципи діагностики та лікування хворих із гострими порушеннями мозкового кровообігу: метод. рекомендації / Ю. П. Зозуля, Волошин П. В., Міщенко Т. С. [та ін.]– Харків, 2007.– 61 с.
11. Хоодаківський О. А. Нейропротекторна дія похідних 4-оксо(аміно-) хіназоліну при експериментальній ішемії головного мозку: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія»: Одес. держ. мед. ун-т.– Одеса, 2009.– 21 с.
12. Черний В. И. Острая церебральная недостаточность / В. И. Черный.– Донецк.– Издатель Заславский А. Ю, 2010.– 433 с.
13. Эволюция проблемы нейропротекции / Р. У. Островская, Т. А. Гудашева, Т. А. Воронина [и др.] // Эксперим. и клин. фармакол.– 2003.– Т. 66, № 2.– С. 32–37.

14. Этиология, патогенез, клиническая диагностика и лечение острых нарушений мозгового кровообращения / И. А. Измайллов, А. В. Иванова, И. Т. Косарева [и др.] // Русский мед. журн.– 2003.– Т. 11, № 10.– С. 28–34.
15. Adibhatla R. J. Cytidine 5 -diphosphocholine (CDP-choline) in stroke and other CNS disorders / R. J. Adibhatla, J. R. Hatcher // J. Neurochem. Res, 2005.– V. 30.– P. 15–23.
16. Kobayashi T. Ca²⁺-channel antagonists and neuroprotection from cerebral ischemia / T. Kobayashi, J. Mory // Eur. J. Pharmacol.– 1998.– V. 363.– P. 1–15.
17. Nagakura A. Effects of a phosphodiesterase IV inhibitor rolipram on microsphere embolism-induced and cerebral cyclic AMP signal transduction system in rats / A. Nagakura, J. M. Robert, M. Thomas // Br. J. Pharmacol.– 2002.– V. 135.– P. 1783–1793.
18. Torp R. Differential expression of the glial glutamate transporters in the rat brain / R. Torp // Eur. J. Neurosci.– 2000.– V. 6, № 1.– P. 936–942.

**Г. И. Степанюк, Л. И. Маринич, А. А. Ходаковский,
С. И. Коваленко, Г. Г. Берест**

Влияние производного 6-замещенных 3R-2H-[1,2,4]триазино [2,3-с] хиназолин-2-онов (соединения МТ-279) на состояние кислотно-щелочного равновесия и уровень Ca²⁺ в крови гербел с моделью острого нарушения мозгового кровообращения

На модели острого нарушения мозгового кровообращения (односторонняя окклюзия общей сонной артерии) у гербел установлено, что производное 6-замещенных 3R-2H-[1,2,4]триазино [2,3-с]хиназолин-2-онов (соединение МТ-279, внутривенно 3 раза в сутки в дозе 10 мг/кг) так же, как и мексидол (100 мг/кг) проявляет признаки церебропротекторного действия. Это сопровождается нормализацией показателей кислотно-щелочного равновесия и уровня Ca²⁺ в крови, отступающей от ишемизированного полушария головного мозга. По степени защитного эффекта на ишемизированный мозг соединение МТ-279 сопоставимо с референс-препаратом.

Ключевые слова: острое нарушение мозгового кровообращения, производное 6-замещенных 3R-2H-[1,2,4]триазино [2,3-с]хиназолин-2-онов, мексидол, кислотно-щелочное равновесие

G. I. Stepanyuk, L. I. Marynich, O. A. Khodakivskiy, S. I. Kovalenko, G. G. Berest
The impact of derivative of 6-substituted 3R-2H [1,2,4] triazin (2,3-c) chinazolin-2-ons (compound MT-279) on the state of acid-alkaline balance and level Ca²⁺ in blood of herbels with model of acute ischemic brain

On the model of acute ischemic brain (unilateral occlusion of the common carotid artery) in herbels it was founded that derivative of 6-substituted 3R-2H [1,2,4] triazin (2,3-c) chinazolin 2-ons (compound MT-279) after three times daily intraperitoneal administration at dose of 10 mg/kg as well as meksidol at dose of 100 mg/kg showed signs cerebroprotectory action. This confirmed by normalization of indicators of acid-base balance and Ca²⁺ level in the blood that flowing from ischemic hemisphere of the brain. On the degree of protection effect on ischemic brain compound MT-279 is almost matched with reference drug.

Key words: acute ischemic brain, 6-substituted derivatives of 3R-2H [1,2,4] triazin (2,3-c) chinazolin 2-ons, meksidol

Надійшла: 10. 10.2011 р.

Контактна особа: Степанюк Г. І., докт. мед. наук, професор, зав. кафедри фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, вул. Пирогова, 56; м. Вінниця, 21018. Тел.: (432) 61-14-00.