

© Беленичев И. Ф., Павлюк И. В., Кучеренко Л. И.

УДК 616.89-48-02-091.8

¹Беленичев И. Ф., ¹Павлюк И. В., ^{1,2}Кучеренко Л. И.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА НЕЙРОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ L-ЛИЗИНА В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

¹Запорожский государственный медицинский университет
(г. Запорожье)

²НПО «Фарматрон» (г. Запорожье)

bidnenko2012@gmail.com

Данная работа является фрагментом научной темы кафедры фармакологии и медицинской рецептуры Запорожского государственного медицинского университета «Молекулярно-биохимические механизмы формирования митохондриальной дисфункции нейронов головного мозга в условиях острой церебральной ишемии: новые мишени нейропротекции», № государственной регистрации 0113U000797.

Вступление. Высокий уровень алкоголизации населения в странах постсоветского пространства и, в том числе, на Украине является причиной большого количества острых отравлений алкоголем и его суррогатами, регистрируемых в последнее десятилетие [9,12]. Особенно важным является изменение структуры алкогольных отравлений в сторону преобладания у лиц среднего и молодого возраста, а также увеличение числа подобных отравлений у детей [2,12]. Наряду со значительной смертностью при невозможности оказания своевременной медицинской помощи серьёзным последствием острого отравления алкоголем являются нарушения функций головного мозга, а нейротоксические поражения этанолом существенно влияют на социальный статус и качество жизни этой категории больных и являются причиной их инвалидизации [2,5]. Поэтому исследование молекулярно-биохимических поражений головного мозга при интоксикации этанолом и разработка новых подходов к таргетной нейропротекции определяет актуальность настоящего исследования с возможностью использования полученных результатов в клинической практике. В последнее время через призму нейропротекции рассматриваются препараты, модулирующие активность таких трансмиттерных систем головного мозга, как ГАМК-ергическая и глутаматергическая. Известна роль глутаматергической системы в механизмах глутамат-кальцевого каскада, дискоординации в системе NO и инициации нейроапоптоза и утрате когнитивно-мнестических функций [1,2,14]. Особого внимания нейрофармакологов заслуживает L-лизин и его производные. L-лизин посредством превращения в пипеколовую кислоту повышает аффинность ГАМК бензодиазепин-рецепторного комплекса, снижает трансмиттерный аутокоидоз и проявляет свойства

эндогенного антиконвульсанта, нейропротектора и анксиолитика [1,6]. Заслуживают внимания и производные L-лизин — L-лизина гидрохлорид [1], L-лизина эссцинат [1], разработанный в НПО «Фарматрон» (Украина) (S)-2,6 диаминогексановой кислоты 3-метил-1,2,4-триазалил-5-тиоацетат (Ангиолин) [1,10,11] и N⁶-(1-иминоэтил) -L-лизина дигидрохлорид (селективный ингибитор iNOS) [13,16], проявляющие нейропротективные свойства на моделях церебральной ишемии и интра-церебрального кровоизлияния. Вышеизложенное теоретически обосновывает перспективность изучения нейропротективной активности производных L-лизина в условиях острой и хронической алкогольной интоксикации и определяет актуальность данной работы.

Цель исследования. Провести сравнительную оценку нейропротективного действия производных L-лизина — L-лизина гидрохлорида, L-лизина эссцината, (S)-2,6 диаминогексановой кислоты 3-метил-1,2,4-триазалил-5-тиоацетата (Ангиолин) и N⁶-(1-иминоэтил) -L-лизина дигидрохлорида при моделировании острой алкогольной интоксикации.

Объект и методы исследования. Экспериментальная часть выполнена на 70 половозрелых белых крысах-самцах массой 160-180 г. Крысы получены из вивария Института фармакологии и токсикологии АМН Украины. Все манипуляции были проведены согласно положениям «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, которых используют для экспериментальных и научных целей». Модель острой алкогольной интоксикации (ОАИ) создавали путем однократного интрагастрального введения 25% раствора этанола из расчета 22,4 г/кг. Это количество этанола считают дозой высокой токсичности (ее величина считается 0,8 ЛД₅₀) [5,7]. Данная модель сопровождается психо-неврологическими изменениями, а также патобиохимическими и морфогистологическими нарушениями головного мозга. Исследуемые препараты вводили животным через 30 мин. после введения алкоголя (лечебный режим введения) внутривентриально однократно: ангиолин ((S)-2,6 диаминогексановой кислоты 3-метил-1,2,4-триазалил-5-тиоацетат, серия № 10072013) (НПО «Фарматрон», Украина) в дозе 50 мг/кг [10,11],

L-лизина гидрохлорид (*Sigma, USA, Cat. No. L5626*) — 100 мг/кг [1], L-лизина эсцинат (Корпорация «Артериум», Украина) — 0,5 мл/кг [1], L-NIL (N⁶-(1-иминоэтил) -L-лизина дигидрохлорид), (*Cat. No. 1139, Tocris Bioscience, UK*) — 20 мг/кг [16]. В качестве референс-препарата применяли милдронат (100 мг/кг), который широко применяется при нарушениях нервной системы у больных хроническим алкоголизмом [8]. Выраженность острого отравления этанолом оценивали по «балльной системе» [3,5]. Для оценки степени угнетения функционирования ЦНС при действии этанола рассчитывали индекс тяжести неврологических нарушений (ИТНН). ИТНН в баллах отражает состояние экспериментальных животных, соответствующее степени острой алкогольной интоксикации у человека: более 55 баллов — уровень физиологической нормы; от 46 до 55 баллов — оглушение; от 36 до 45 баллов — сопор; от 26 до 35 баллов — кома умеренная; от 18 до 25 баллов — кома глубокая; терминальная кома — 17 баллов и меньше. На 3 сутки животные выводились из эксперимента под тиопентал-натриевым наркозом (40 мг/кг). Головной мозг гомогенизировали на холоде, в солевой изотонической среде (0,15M KCl) при температуре +4°C, с помощью стеклянного гомогенизатора, в соотношении ткань — солевой раствор 1:20 [4]. Затем при температуре (+4°C) методом дифференциального центрифугирования на рефрижераторной центрифуге Sigma 3-30k (Германия) выделяли цитозольную и митохондриальную фракции при 17000 g в 10-кратном объеме среды, содержащей (в ммольях): сахарозы — 250, трис-HCl-буфера — 20, ЭДТА — 1 (pH 7,4) [4,17]. Для оценки интенсивности окислительного стресса определяли маркеры окислительной модификации белка — альдегидфенилгидразоны (АФГ) и карбоксифенилгидразоны (КФГ), а также нитротирозин. Показатели окислительной модификации белка (ОМБ) определяли по методу В. Halliwell по взаимодействию окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ) с образованием альдегидфенилгидразонов (АФГ) и карбоксифенилгидразонов (КФГ), имеющих спектр поглощения при 274 нм 363 нм соответственно [4,17]. Нитротирозин определяли в цитозольной фракции гомогената головного мозга твердофазным иммуносорбентным сэндвич-методом ELISA, ELISA Kit (*Cat. № НК 501-02*) фирмы Nycult Biotech и выражали в нмоль/г ткани.

Результаты исследования рассчитывали с применением стандартного статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), а также «SPSS 16.0», «Microsoft Office Excell 2003». Нормальность распределения оценивали по критерию Shapiro-Wilk. Данные представлены в виде среднего значения. Достоверность различий между средними значениями определяли по критерию Стьюдента при нормальном распределении. В случае распределения, отличного от нормального, или анализа порядковых переменных использовали критерий

U Mann-Whitney. Для сравнения независимых переменных в более чем двух выборках применяли дисперсионный анализ (ANOVA) при нормальном распределении или критерий Kruskal-Wallis для распределения, отличного от нормального. Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия $p < 0,05$ (95%).

Результаты исследований и их обсуждение.

Осуществляя наблюдение за крысами, получившими 0,8 ЛД₅₀ этанола, в различные временные промежутки после внутрижелудочного введения, нам удалось проследить в динамике изменение поведенческих и неврологических показателей от физиологической нормы до глубоко угнетения ЦНС и последующего, визуально оцениваемого, восстановления состояния животных. Значения индекса тяжести неврологических нарушений (ИТНН) определяли на протяжении 36 часов наблюдения после введения этанола в дозе 0,8 ЛД₅₀ у каждого животного, взятого в эксперимент. Исследования показали, что введение этанола в субтоксической дозе приводит к тяжелым неврологическим нарушениям. Так, через 2 часа после введения этанола у животных угнетались глоточный рефлекс (при надавливании на корень языка зондом затруднялись глотательные движения), рефлекс сгибания задних конечностей (при сжатии задней конечности пинцетом не происходило её сгибание и сокращением брюшной стенки), зрачковый рефлекс (не было реакции зрачка на свет), корнеальный рефлекс (при прикосновении волоском к роговице глаза не наблюдается закрытие век). В этой группе животных подавлялись как тактильно-болевая чувствительность, так и поведенческие реакции — животные не реагировали на звуковые раздражители, взятие их в руки, не переворачивались на живот, не могли самостоятельно передвигаться.

Согласно шкале ИТНН животные находились в степени комы или тяжелой комы. Так, через 2 часа после приема субтоксической дозы алкоголя ИТНН животных контрольной группы снизился на 61% по сравнению с ИТНН интактной группы и в течение последующих 10 часов был ниже на 50%. Восстановление поведенческой и рефлекторной активности началось с 24 часов после введения алкоголя, но и через 36 часов после приема этанола нейрофизиологические показатели животных не достигли значений физиологической нормы. Так, значения ИТНН контрольной группы и через 24 часа и через 36 часов после приема субтоксической дозы алкоголя оставались ниже значений интакта на 30%. Внутрибрюшинное введение Ангиолина в дозе 50 мг/кг животным с ОАИ позволило достоверно уменьшить нарушения поведенческих и неврологических показателей в различные временные промежутки после приема субтоксической дозы алкоголя. Результаты исследований представлены в **таблице 1**.

Так, осуществляя наблюдение в различные временные промежутки с помощью шкалы ИТНН за крысами, получившими внутрибрюшинно Ангиолин после приема 0,8 ЛД₅₀ этанола, было установлено, что введение этого препарата достоверно уменьшает

индекс тяжести неврологических нарушений, начиная с 2 часа наблюдения (повышение ИТНН на 31%), с максимальным проявлением эффекта на 5-10 часах наблюдения (повышение ИТНН на 55-60%). Назначение Ангиолина восстанавливало поведенческие реакции животных после отравления субтоксическими дозами этанола — они быстрее реагировали на звуковые раздражители, взяли их в руки, переворачивались на живот, начинали самостоятельно передвигаться. Особенно стоит отметить, что Ангиолин оказывал достоверное действие в отношении ИТНН на протяжении 10 часов наблюдения. Именно в этот период после приема субтоксических доз алкоголя (острый период) наиболее часто наблюдается летальность, что требует проведения интенсивных медикаментозных мероприятий для спасения жизни пациента. Начиная с 10 часа после ОАИ, животные, получавшие Ангиолин, согласно индексу неврологических нарушений находились в пределах физиологической нормы. У животных, получавших Ангиолин, полностью восстанавливался глоточный рефлекс, рефлекс сгибания задних конечностей, зрачковый рефлекс, корнеальный рефлекс, тактильно-болевая чувствительность. Животные, получавшие L-лизина гидрохлорид, L-лизина эссцинат и N⁶-(1-иминоэтил) -L-лизина дигидрохлорид находились в пределах физиологической нормы только через 36 часов после острой алкоголизации. По силе терапевтического действия Ангиолин достоверно превосходит эффективность милдроната на 2, 5, 10 и 24 часах наблюдения. Введение животным с ОАИ N⁶-(1-иминоэтил) - L-лизина дигидрохлорида также достоверно уменьшало нарушения поведенческих и неврологических показателей в различные временные промежутки после приема субтоксической дозы алкоголя. Так, введение этого производного L-лизина приводило, в соответствии со шкалой ИТНН, к достоверному уменьшению

индекса тяжести неврологических нарушений, начиная с 5 часа наблюдения (повышение ИТНН на 32%) и с его сохранением до 36 часов наблюдения (повышение ИТНН на 34%). Через 36 часов после острой алкоголизации, животные, получавшие N⁶-(1-иминоэтил) -L-лизина дигидрохлорид, согласно ИТНН находились в пределах физиологической нормы. По силе нейропротективного действия N⁶-(1-иминоэтил) -L-лизина дигидрохлорид на 5 и 10 часах наблюдения достоверно превосходит милдронат. Введение животным с ОАИ L-лизина эссцинат оказывало достоверное нейропротективное действие, согласно шкале ИТНН, начиная с 10 часа наблюдения (ИТНН увеличивался по сравнению с контролем на 33%) с сохранением этого эффекта до 36 часа наблюдения. Введение L-лизина животным с ОАИ оказывало достоверное влияние на показатель ИТНН только на 36 часах наблюдения. По силе терапевтического действия L-лизина эссцинат и L-лизина гидрохлорид были сопоставимы с эффективностью милдроната. Введение Милдроната животным с ОАИ не оказывало достоверного влияния на показатель ИТНН животных после употребления субтоксической дозы алкоголя в течение 24 часов, оказывало достоверное влияние на этот показатель только на 36 часу наблюдения.

На фоне острой алкогольной интоксикации у крыс развился оксидативный и нитрозативный стресс, о чем свидетельствовало повышение показателей альдегидфенилгидразонов (АФГ) и кетонфенилгидразонов (КФГ), а также продуктов нитрозилирования белков – нитротирозина в головном мозге. Так, в группе контроля показатели АФГ и КФГ повысились на 112,5% и 131,2% соответственно по сравнению с группой интакта и показатели нитротирозина в головном мозге крыс повысились в 8,4 раза по сравнению с группой интакта (табл. 2).

Индекс тяжести неврологических нарушений в баллах после острой алкогольной интоксикации (ОАИ)

Группы животных	2 часа	5 часов	10 часов	24 часа	36 часов
Интакт (n=10)	67,6±0,548	67,6±0,548	67,6±0,548	67,6±0,548	67,6±0,548
Контроль (ОАИ) (n=10)	26,4±2,27 (-61%)	29,4±2,12 (-56,5%)	33,4±2,87 (-50,6%)	42,7±3,71 (-36,8%)	47,4±4,77 (-30%)
ОАИ+Ангиолин, 50 мг/кг (n=10)	34,5±2,7*1 (+31%)	45,7±3,6*1 (+55%)	53,4±4,1*1 (+60%)	58,9±5,1* (+38%)	65,3±4,4* (+38%)
ОАИ+N ⁶ -(1-иминоэтил) - L-лизина дигидрохлорид — 20 мг/кг (n=10)	29,7±1,5 (+12%)	38,8±2,2*1 (+32%)	44,3±3,3*1 (+33%)	53,2±3,2* (+24%)	63,5±6,2* (+34%)
ОАИ+L-лизина эссцинат — 0,5 мл/кг (n=10)	26,8±2,3 (+2%)	28,3±3,4 (-4%)	41,9±3,1* (+25%)	52,7±3,7* (+23%)	61,8±5,2* (+30%)
ОАИ+L-лизина гидрохлорид — 100 мг/кг (n=10)	26,2±3,7 (-1%)	28,8±2,8 (-2%)	38,8±4,3 (+16%)	51,3±4,8 (+20%)	58,8±4,5* (+24%)
ОАИ+ Милдронат, 100 мг/кг (n=10)	25,5±3,3 (-3%)	28,3±4,7 (-4%)	35,7±5,0 (+7%)	49,1±5,7 (+15%)	57,8±5,1* (+22%)

Примечание:

* — P<0,05 по отношению к контрольной группе;

1 — P<0,05 по отношению к группе, получавшей милдронат.

Таблица 1.

Оксидативный стресс приводит к повреждению наиболее важных полимеров – нуклеиновых кислот, белков и липидов. Так, АФК вызывают повреждения ДНК (окисление оснований, их модификация, разрывы цепей, повреждения хромосом). В результате этого снижается или исчезает их многообразная функциональная активность — ферментативная, регуляторная, участие в матричных синтезах, транспорт ионов и липидов, и, как результат всего этого – изменение нормального функционирования нейронального аппарата головного мозга, нарушения памяти и когнитивно-мнестических функций [1,2,14,15]. Введение Ангиолина животным

Таблиця 2.

Маркеры оксидативного и нитрозирующего стресса в головном мозге животных после острой алкогольной интоксикации (ОАИ) на 3 сутки эксперимента

Группа животных	Продукты ОМБ, у.е./г белка		Нитротирозин, нмоль/г ткани
	АФГ	КФГ	
Интакт (n=10)	0,32±0,02	0,16±0,02	15,2±0,85
Контроль ОАИ (n=10)	0,68±0,04	0,37±0,02	128,5±10,2
ОАИ + Ангиолин, 50 мг/кг, (n=10)	0,44±0,03* ¹ (-35%)	0,21±0,011* ¹ (-43%)	61,2±4,4* ¹ (-52%)
ОАИ+N ⁶ -(1-иминоэтил) - L-лизина дигидрохлорид — 20 мг/кг, (n=10)	0,50±0,04* (-26%)	0,26±0,03* (-30%)	74,2±4,2* ¹ (-42%)
ОАИ+L-лизина эссцинат — 0,5 мл/кг	0,55±0,03* (-19%)	0,29±0,02* (-21%)	88,2±6,1* (-31%)
ОАИ+L-лизина гидрохлорид — 100 мг/кг, (n=10)	0,58±0,06 (-15%)	0,31±0,04 (-16%)	94,2±5,3* (-26%)
ОАИ+Милдронат, 100 мг/кг, (n=10)	0,60±0,07 (-17%)	0,30±0,05 (-19%)	92,5±7,2* (-28%)

Примечание:

* — P<0,05 по отношению к контрольной группе;

1 — P<0,05 по отношению к группе, получавшей милдронат.

с ОИМ приводило к достоверному снижению в головном мозге АФГ и КФГ на 35% и 43% соответственно, а также снижение нитротирозина на 52% по отношению к группе контрольных животных на 3 сутки после алкогольной интоксикации (табл. 2). Ангиолин оказывал значительное влияние на запуск процессов окислительной модификации белковых молекул на фоне тяжелой острой алкоголизации животных, практически приближаясь к показателям группы интакта, что свидетельствовало о значительном антиоксидантном эффекте препарата. По степени влияния на маркеры оксидативного и нитрозирующего стресса Ангиолин достоверно превосходит милдронат. Защитные эффекты Ангиолина на ткань мозга включают его оптимизирующее воздействие на энергетический метаболизм и гомеостаз кальция, стимуляцию внутриклеточного синтеза белка, угнетение процессов глутамат-кальциевого каскада и перекисного окисления липидов [1]. Реализация этих эффектов тесно связана с наличием в структуре Ангиолина L-лизина, обеспечивающего непосредственную защиту нейрона в условиях глутаматной эксайтотоксичности и 1,2,4-триазаолил-5-тиоацета, повышающего энергетический и антиоксидантный статус клетки [1,10,11]. Значительное ингибирующее действие на реакции оксидативного и нитрозирующего стресса в головном мозге после острой алкогольной интоксикации оказывало также и введение такого производного L-лизина, как N⁶-(1-иминоэтил) -L-лизина дигидрохлорида. Так, введение этого производного животным после ОАИ приводило к достоверному снижению АФГ на 26%, КФГ на 36%, а нитротирозина на 42% по сравнению с контрольной группой животных.

Подобное действие N⁶-(1-иминоэтил) -L-лизина дигидрохлорида в условиях острого отравления этанолом необходимо рассматривать через призму его ингибирующего влияния на активность индуцибельной NOS и роли этого фермента в иницировании нитрозирующего стресса. Индуцибельная NOS в настоящее время рассматривается как перспективная мишень фармакокоррекции при ряде нейродегенеративных заболеваний, что экспериментально подтверждается нейропротективным действием при введении селективных ингибиторов этого фермента [1,13,16]. Введение животным с ОАИ L-лизина эссцинат приводило к достоверному снижению маркеров окислительной нейродеструкции — АФГ на 19%, КФГ на 21% и нитротирозина на 31% в головном мозге. L-лизина гидрохлорид в условиях острой алкогольной интоксикации не оказывал достоверного влияния на уровень маркеров оксидативного стресса, но достоверно снижал маркер нитрозирующего стресса — нитротирозин

на 26% и по эффективности был сопоставим с милдронатом. Введение Милдроната приводило к достоверному снижению нитротирозина в головном мозге на 28% по отношению к контролю, при этом не влияя на маркеры оксидативного стресса — АФГ и КФГ.

Вывод. Таким образом, все изучаемые производные L-лизина оказывают, в разной степени выраженности и с разным латентным периодом, нейропротективное действие в условиях острой алкогольной интоксикации. Защитное действие на головной мозг у производных L-лизина направлено на уменьшение неврологических нарушений, восстановление поведенческих реакций (животные быстрее реагировали на звуковые раздражители, взятие их в руки, переворачивались на живот, начинали самостоятельно передвигаться), а также на снижение оксидативной нейродеструкции. По силе нейропротективного действия два производных L-лизина — Ангиолин и N⁶-(1-иминоэтил) -L-лизина дигидрохлорид достоверно превосходят эффективность милдроната, а два производных — L-лизина эссцинат и L-лизина гидрохлорид — сопоставимы с ним. Наиболее активным среди всех изучаемых производных L-лизина является Ангиолин, который оказывает наиболее выраженное по действию и наиболее раннее по времени регистрации достоверное нейропротективное действие. Полученные результаты являются экспериментальным обоснованием для углубленного изучения нейропротективного действия Ангиолина и его лекарственных форм при хронической алкогольной интоксикации.

Перспективы дальнейших исследований. В дальнейшем данный препарат планируется использовать в условиях острой алкогольной интоксикации.

Литература

1. Беленичев И.Ф. Нейропротекция и нейропластичность / И.Ф. Беленичев, В.И. Черний, Л.И. Кучеренко [и др.]. — Киев: Логос, 2015. — 512 с.
2. Беленичев И.Ф. Новые возможности лечения алкогольной болезни. Перспективы применения Цереброкурина / И.Ф. Беленичев, С.В. Павлов, Н.В. Бухтиярова // Международный неврологический журнал. — 2009. — № 1 (23). — С. 21-34.
3. Долго-Сабуров В.Б. Центральные нейрхимические эффекты острого и хронического воздействия этанола. Механизмы толерантности и зависимости / В.Б. Долго-Сабуров // Биомедицинский журнал Medline.ru. — 2011. — Т. 12. — С. 1423-1436.
4. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных средств первичной и вторичной нейропротекции / И.С. Чекман, И.Ф. Беленичев, Н.А. Горчакова [и др.]. — Методические рекомендации ГЭЦ МЗ Украины, 2016. — 80 с.
5. Лисицкий Д.С. Фармакологическая коррекция нейротоксических поражений у белых крыс после тяжелой формы острой алкогольной интоксикации / Д.С. Лисицкий, А.Н. Петров, М.К. Шевчук // Токсикологический вестник. — 2013. — № 1. — С. 19-23.
6. Мазур И.А. Метаболитотропные препараты / И.А. Мазур, И.С. Чекман, И.Ф. Беленичев, Л.И. Кучеренко. — АМЛ Ассоциация Медицинская Литература. — ЗАО: Москва, 2007. — 304 с.
7. Макарова Н.В. Математическое моделирование депримирующих эффектов в эксперименте / Н.В. Макарова, Е.Ю. Бонитенко, А.Н. Гребенюк, В.А. Башарин, М.Б. Иванов, Д.С. Лисицкий // Актуальные проблемы токсикологии и радиобиологии: тезисы Российской научной конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 19-20 мая 2011 г. — СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2011. — С. 109.
8. Минко А.И. Применение цитопротектора милдронат в комплексной терапии алкогольной зависимости / А.И. Минко, А.В. Бараненко // Український вісник психоневрології. — 2006. — Т. 14, вип. 2. — С. 99-103.
9. Немцов А.В. Алкогольная история России: новейший период / А.В. Немцов. — М.: Книжный дом «Либроком», 2009. — 320 с.
10. Патент 2370492 РФ, МПК С 07 D 413/00 (2006.01). Лизиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат, проявляющий нейропротективное, ноотропное, кардиопротективное, эндотелиопротективное, противоишемическое, антиоксидантное, противовоспалительное противогипоксическое действие и обладающий низкой токсичностью / Мазур И.А., Беленичев И.Ф., Колесник Ю.М., Абрамов А.В., Кучеренко Л.И., Волошин Н.А., Чекман И.С., Мамчур В.И., Горчакова Н.А., Георгиевский Г.В., Грошовый Т.А. (UA); заявитель и патентообладатель ООО НПО «Фарматрон». — № 2007121014; заявл. 04.06.07; опубл. 20.10.09, Бюл. 29.
11. Патент 86668 Україна, МПК С 07 D 249/08 (2009.01), А 61 К 31/4196, А 61 Р 9/00, А 61 Р 9/10 (2009.01), А 61 Р 25/28 (2009.01). Лізіній 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат / Мазур І.А., Беленічев І.Ф., Колеснік Ю.М., Абрамов А.В., Кучеренко Л.І., Волошин М.А., Чекман І.С., Мамчур В.І., Горчакова Н.О., Георгієвський Г.В., Грошовий Т.А.; заявник і патентовласник ТОВ НВО «Фарматрон». — № а200705865; заявл. 25.05.07; опубл. 12.05.09, Бюл. 9.
12. Стан психічного здоров'я населення та психіатричної допомоги в Україні: інформаційно-аналітичний огляд за 2000-2009 рр. — Х., 2010. — 160 с.
13. Amberg F. L-N-iminoethyl-lysine after experimental brain trauma attenuates cellular proliferation and astrocyte differentiation / F. Amberg, C. Gahm, T. Mathiesen // Acta Neurochir. — 2012. — Vol. 154 (4). — P. 681-687.
14. Ambrish Kumar Ethanol Neurotoxicity in the Developing Cerebellum: Underlying Mechanisms and Implications / Ambrish Kumar // Brain Sci. — 2013. — Vol. 3. — P. 941-963.
15. Evans P.H. Free radicals in brain metabolism and pathology / P.H. Evans // Brit. Med. Bull. — 2007. — Vol. 1370. — P. 577-587.
16. Louin G. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces neurological deficit but not cerebral edema following traumatic brain injury / G. Louin, C. Marchard-Verrecchia, B. Palmier // Neuropharmacology. — 2006. — Vol. 50,2. — P. 182-190.
17. Lundblad Roger L. Handbook of Biochemistry and Molecular Biology, Fourth Edition / Roger L. Lundblad, Fiona Macdonald. — CRC Press, 2010. — 1098 p.

УДК 616.89-48-02-091.8

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА НЕЙРОПРОТЕКТИВНОЇ ДІЇ ПОХІДНИХ L-ЛІЗИНУ В УМОВАХ ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Беленічев І. Ф., Павлюк І. В., Кучеренко Л. І.

Резюме. Моделювання важкої форми гострої інтоксикації етанолом, викликаної одноразовим його введенням в дозі 0,8ЛД50 перорально, призводить у тварин контрольної групи (білі безпородні щури самці масою 160-180) до важких неврологічних порушень. У головному мозку тварин контрольної групи відзначали збільшення маркерів оксидативного стресу — АФГ і КФГ і нітרוзирующего стресу — нітротирозину. Похідні L-лізину — Ангіоліна (50 мг/кг), L-лізину гідрохлорид (100 мг/кг), L-лізину ессцінат (0,5 мл/кг), N⁶- (1-іміноетіл) -L-лізину дигідрохлорид (20 мг/кг), а також референс-препарат Мілдронат (100 мг/кг) вводили внутрішньочеревино через 30 хв. після алкоголізації. Всі досліджувані похідні L-лізину чинять, з різним ступенем вираженості і з різним латентним періодом, нейропротективну дію, яка спрямована на зменшення неврологічних порушень, відновлення поведінкових реакцій і на зниження оксидативної нейродеструкції. Найбільш активним серед всіх досліджуваних похідних L-лізину є Ангіолін, що є експериментальним обґрунтуванням для його поглибленого вивчення.

Ключові слова: гостра алкогольна інтоксикація, нейропротекція, Ангіолін, L-лізину гідрохлорид, L-лізину ессцінат, N⁶- (1-іміноетіл) -L-лізину дигідрохлорид, Мілдронат.

УДК 616.89-48-02-091.8

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА НЕЙРОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ L-ЛИЗИНА В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Беленичев И. Ф., Павлюк И. В., Кучеренко Л. И.

Резюме. Моделирование тяжелой формы острой интоксикации этанолом, вызванной однократным его введением в дозе $0,8LD_{50}$ перорально, приводит у животных контрольной группы (белые беспородные крысы самцы массой 160-180) к тяжелым неврологическим нарушениям. В головном мозге животных контрольной группы отмечали увеличение маркеров оксидативного стресса — АФГ и КФГ и нитрозирующего стресса — нитротирозина. Производные L-лизина — Ангиолин (50 мг/кг), L-лизина гидрохлорид (100 мг/кг), L-лизина эссцинат (0,5 мл/кг), N⁶-(1-иминоэтил) -L-лизина дигидрохлорид (20 мг/кг), а также референс-препарат Милдронат (100 мг/кг) вводили внутривентриально через 30 мин. после алкоголизации. Все изучаемые производные L-лизина оказывают, в разной степени выраженности и с разным латентным периодом, нейропротективное действие, которое направлено на уменьшение неврологических нарушений, восстановление поведенческих реакций и на снижение оксидативной нейродеструкции. Наиболее активным среди всех изучаемых производных L-лизина является Ангиолин, что является экспериментальным обоснованием для его углубленного изучения.

Ключевые слова: острая алкогольная интоксикация, нейропротекция, Ангиолин, L-лизина гидрохлорид, L-лизина эссцинат, N⁶-(1-иминоэтил) -L-лизина дигидрохлорид, Милдронат.

UDC 616.89-48-02-091.8

COMPARATIVE EVALUATION OF THE NEUROPROTECTIVE EFFECT OF L-LYSINE DERIVATIVES UNDER ACUTE ALCOHOL INTOXICATION

Belienichev I. F., Pavliuk I. V., Kucherenko L. I.

Abstract. The development of new neuroprotective methods pertaining alcoholism becomes relevant objective of the present stage pharmacology. The comparative evaluation of derivatives neuroprotective effect of L-lysine — L-lysine hydrochloride, L-lysine escinate, (S)-2,6 diaminohexanoic acid 3-methyl-1,2,4-triazolyl-5-thioacetate (Angiolin) and N⁶-(1-iminoethyl) -L-lysine dihydrochloride in modeling of acute alcohol intoxication was carried out. The research was performed on 70 white outbred male rats weighing 160-180 grams. The model of acute severe alcohol intoxication (AAI) was provided by single dosing intragastric administration of 25% ethanol solution in amount of 22.4 g/kg. Used ethanol amount is considered the dose of high toxicity (its value is $0.8LD_{50}$). The investigational drugs were administered to animals 30 minutes after the alcohol introduction intraperitoneally single dosing: angiolin ((S)-2.6 diaminohexanoic acid 3-methyl-1,2,4-triazolyl-5-thioacetate) (SPA «Pharmatron», Ukraine) dosing 50 mg/kg, L-lysine hydrochloride (Sigma, USA) – 100 mg/kg, L-lysine aescinat (Corporation «Arterium», Ukraine) – 0,5 ml/kg, N⁶-(1-iminoethyl) -L-lysine dihydrochloride, (Tocris Bioscience, UK) – 20 mg/kg. Mildronate (100 mg/kg) was administered as the reference drug. The index of neurological disorders severity was calculated to assess the depression degree of CNS functioning under ethanol effect. The experimental animals condition that corresponded to degree of acute alcohol human intoxication was represented in points by the mentioned index. In 3 days after alcoholization animals were removed from the experiment (thiopental sodium, 40 mg/kg) and concentration of oxidative stress markers – aldehyde phenylhydrazones (APH), carboxy phenylhydrazones (CPH) and nitrosating stress markers concentration – nitrotyrosine was determined in the brain. Comparison of the groups was carried out using the criterion Whitney-Mann U-test. Modeling of acute alcohol intoxication (control) caused severe neurological disorders: the gag reflex, flexion reflex of the hind limbs, pupillary reflex, corneal reflex were depressed in animals, both the tactile-pain sensitivity and behavioral responses were inhibited, that is the animals did not react when were taken in arms, did not respond to sound stimuli, did not roll over, could not move by themselves. The significant increase of APH, CPH and nitrotyrosine was recorded in the brain of the animals in 3 days after alcoholization that indicated the oxidative neurodestruction. The results of the research stated that all studied L-lysine derivatives have neuroprotective effect, in varying intensity and different latent period (increase of the neurological disorders severity index, reduction of nitrosating and oxidative stress markers) under conditions of acute alcohol intoxication. The protective effect of L-lysine derivatives on the brain is aimed at neurological disorders reducing, recovery of the behavioral reactions (the animals responded to sound stimuli more rapidly and also when were taken in arms, rolled over, began to move by themselves) as well as the reduction of oxidative neurodestructive markers – APH, CPH and nitrotyrosine. The neuroprotective effect of two derivatives of L-lysine — Angiolin and N⁶-(1-iminoethyl) -L-lysine dihydrochloride significantly exceeds the effectiveness of Mildronate and two derivatives — L-lysine aescinat and L-lysine hydrochloride are comparable to it. The most active among all studied derivatives of L-lysine is Angiolin, which has the most pronounced effect and the most early reliable neuroprotective effect according to registration time. The obtained results are the experimental validation for further profound study of the neuroprotective Angiolin effect and its dosage forms in chronic alcohol intoxication.

Keywords: acute alcohol intoxication, neuroprotection, Angiolin, L-lysine hydrochloride, L-lysine aescinat, N⁶-(1-iminoethyl) -L-lysine dihydrochloride, Mildronate.

Рецензент — проф. Дев'яткіна Т. О.

Стаття надійшла 25.09.2016 року