

С. Г. Носач, И. Ф. Беленичев, Е. В. Александрова,
С. В. Левич, В. П. Рыженко

Антиоксидантный механизм нейропротективного действия производного 3-метилксантина (соединения С-3) в условиях внутримозгового кровоизлияния

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: геморрагический инсульт, нейропротекция, 3-метилксантин

Последнее десятилетие прошедшего столетия ознаменовалось открытиями в области нейрофизиологии, биохимии, молекулярной биологии и иммунологии, расширивших представление об общебиологической роли активных форм кислорода (АФК). Исследования, проведенные в 60-80-х годах XX столетия, показали, что патогенез наиболее распространенных заболеваний человека (патология сердечно-сосудистой и эндокринной систем, дыхания, злокачественные образования) имеет четко выраженную свободно-радикальную фазу. При этом было установлено, что АФК, выступая в роли инициаторов свободно-радикального окисления, вызывают окислительную модификацию липидов, белков, нуклеиновых кислот и в дальнейшем приводят к гибели клетки. При остром нарушении мозгового кровообращения по типу геморрагического инсульта происходит торможение дыхательной цепи митохондрий, энергетического обмена, ионного гомеостаза клетки с повышенным содержанием ионов кальция, развитие глутаматной «эксайтотоксичности», инициируется нитрозирующий и оксидативный стресс, развивается нейроапоптоз и гибель клеток [1–3].

В настоящее время активно проводится поиск новых нейропротекторов с антиоксидантным механизмом действия среди скаведжеров активных форм кислорода, NO и свободных радикалов жирных кислот, ингибиторов индуцибельной синтазы NO, модулято-

ров тиол-дисульфидной системы, реактиваторов антиоксидантных ферментов, эндогенных антиоксидантов (глутатиона, α -токоферола, мелатонина, карнозина, белков теплового шока 70) [4–11].

В качестве антиоксидантов-нейропротекторов в поэтапной нейропротективной терапии геморрагического инсульта и черепно-мозговой травмы применение нашли мексидол, эмоксипин, ацетилцистеин, мелатонин, селеназа, глутатион [5, 6, 12]. Особого внимания исследователей заслуживают производные 3-метилксантина. В предыдущих исследованиях *in vitro* и *in vivo* нами было отобрано соединение С-3 (гидразид 1,3-диметил-8-бензиламиноксантинил-7-уксусной кислоты), проявляющее высокую антиоксидантную активность и нейропротективное действие при моделировании острой церебральной ишемии [13–15]. Однако механизм нейропротективного действия этого соединения до конца не ясен.

Цель исследования – изучение нейропротективной активности соединения С-3 в сравнении с пирацетамом и антиоксидантом-нейропротектором – мексидолом при моделировании внутримозгового кровоизлияния (ВК).

Материалы и методы. Объекты исследования. В качестве объектов испытания были использованы 90 белых беспородных крыс обоего пола, массой 140–160 г. Животных содержали на стандартном рационе питания вивария.

Эксперимент проводили в соответствии с Директивой Европейского Союза 2010/10/63 EU.

Модель исследований. ВК моделировали путем введения 0,1 мл аутокрови,

взятой из хвостовой вены, на 100 г веса животного в область внутренней капсулы и стриопаллидарных ядер головного мозга [16]. Операцию выполняли под тиопентал-натриевым наркозом (40 мг/кг) с использованием стереотаксической техники. Соединение С-3 вводили перорально в виде суспензии, стабилизированной Твином-80, сразу после выхода животных из наркоза 1 раз в 1 сут на протяжении всего срока наблюдения (4 и 18 сут) в дозе 100 мг/кг. Препараты сравнения животным вводили по аналогичной схеме в следующих дозах: мексидол – 100 мг/кг, пирацетам – 500 мг/кг. Часть животных выводили из эксперимента на 4, а часть на 18 сут под тиопентал-натриевым наркозом.

Исследования неврологического дефицита. Каждый день определяли выраженность неврологического дефицита по шкале McGrow [17]. Тяжесть состояния определяли по сумме соответствующих баллов: до 3 баллов – легкая степень, от 3 до 7 баллов – средняя степень и от 7 баллов и выше – тяжелая степень. Отмечали парезы, параличи конечностей, тремор, манежные движения, птоз, положение на боку, подвижность, также как проявление неврологического дефицита оценивали длительность удерживания крыс на вращающемся стержне (диаметром 15 см) со скоростью вращения 3 об/мин. Животных тестировали ежедневно, выставляя сумму баллов.

Биохимические исследования. На 4 сут эксперимента часть животных выводили из эксперимента под этиминал-натриевым наркозом (40 мг/кг) путем декапитации. Мозг быстро извлекали, удаляли кровь, отделяли от мозговой оболочки и исследуемые кусочки помещали в жидкий азот. Затем их измельчали в жидком азоте до порошкообразного состояния и гомогенизировали в 10-кратном объеме среды при 2 °С, содержащей (в ммольях): сахаразы – 250, трис-НСl-буфера – 20, ЭДТА – 1 (рН 7,4) [16].

В цитозоле биохимическими методами определяли содержание продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) по уровню альдегидных (АФГ) и

карбоксильных (КФГ) продуктов в реакции с 2,4-динитрофенилгидразином [18]. Состояние антиоксидантной системы определяли по активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГПП) в ткани мозга [19]. Активность NO-синтазы определяли по скорости убывания количества НАДФН⁺, содержание нитратов определяли по реакции Грисса [20]. Нитротирозин определяли в цитозольной фракции твердофазным иммуносорбентным сэндвич-методом ELISA (ELISA Kit Cat. № НК 501-02 фирмы Hycult Biotech) и выражали в нмоль/г ткани [20].

Статистический анализ. Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № АХХR712D833214FAN5), а также «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$ (U-критерий Манна-Уитни) [21].

Результаты и их обсуждение. ВК вызывало неврологические изменения у животных: параличи, парезы, птоз с максимальным проявлением на 4 сут. В этот срок наблюдения в группе контрольных животных средний балл по шкале С.Р. McGrow составлял 16,5 балла, что соответствует тяжелой степени неврологической симптоматики (табл. 1). На 4 сут в контрольной группе выжило 50 % животных. Введение крысам с ВК соединения С-3, мексидола и пирацетама оказывало разный по силе нейропротективный эффект. У животных, получавших пирацетам, проявлялся тяжелый неврологический дефицит на 4 сут наблюдения (16,7 балла). В группе животных, которые получали пирацетам, выжило 60 %. Соединение С-3 и мексидол ослабляли развитие неврологического дефицита, ускоряли восстановление неврологического статуса и снижали гибель животных с ВК, что свидетельствует об их нейропротективном эффекте. На этом фоне значительно выделялось соединение С-3, которое в 4 раза снижало выраженность неврологической симптоматики на 4 сут эксперимента и

Показатели неврологического дефицита и выживаемость животных в различные сроки после внутримозгового кровоизлияния и применения соединения С-3, пирацетама и мексидола, $M \pm m$

Группа животных	Неврологический дефицит, средний балл по шкале С. Р. McGrow		Количество животных, выживших на 18 сутки, %
	4 сутки	18 сутки	
Интактные (n = 10)	0 ± 0	0 ± 0	100
Внутримозговое кровоизлияние (контроль) (n = 5)	16,50 ± 1,22	3,15 ± 0,25	50
Внутримозговое кровоизлияние + соединение С-3 (n = 10)	4,12 ± 0,51* ⁰ #	1,00 ± 0,10*	100* ⁰
Внутримозговое кровоизлияние + пирацетам (n = 6)	16,70 ± 2,32	2,75 ± 0,11	60
Внутримозговое кровоизлияние + мексидол (n = 9)	5,10 ± 0,71*	1,75 ± 0,10*	90*

Примечание. Здесь и в табл. 2–4: * $p < 0,05$ по отношению к контролю; ⁰ $p < 0,05$ по отношению к пирацетаму; # $p < 0,05$ по отношению к мексидолу.

уменьшало летальность на 50 % по сравнению с группой нелеченных животных. По этим показателям соединения С-3 превосходило пирацетам и мексидол (табл. 1).

На 18 сут экспериментального ВК у животных контрольной группы проявлялись неврологические нарушения легкой степени тяжести. Применение соединения С-3 приводило к снижению неврологической симптоматики в 3,15 раза по шкале С. Р. McGrow, по этим показателям соединение С-3 на 1,75 балла превосходило пирацетам, и было сопоставимо с эффектом мексидола. Таким образом, соединение С-3 было наиболее эффективным в острый период ВК, что выгодно отличает его от пирацетама и мексидола.

ВК также приводит к увеличению активности синтазы монооксида азота, повышению уровня стабильных метаболитов NO• – нитритов. Повышение уровня монооксида азота и его цитотоксических дериватов в мозговой ткани в условиях ишемии приводит к развитию нитрозирующего стресса, а также к потере нейроном функциональной активности и инициации апоптоза или некроза [3]. Так, нами было зафиксировано значительное повышение уровня маркера нитрозирующего стресса – нитротирозина в цитозоле головного

мозга крыс с ВК на 4 сут эксперимента (табл. 2).

Также, нами были получены данные, свидетельствовавшие о том, что в головном мозге животных с ВК на 4 сут после операции увеличивалось содержание продуктов ОМБ – АФГ и КФГ (табл. 3). Вводимые препараты и соединения С-3 оказывали ингибирующее действие в отношении различных звеньев оксидативного стресса. Наиболее эффективным среди них оказалось соединение С-3, которое по силе антиоксидантного действия превосходило мексидол и пирацетам. Введение соединения С-3 приводило к уменьшению продуктов ОМБ в мозге животных – АФГ на 59 % и КФГ на 63 % (табл. 3). Введение пирацетама не оказывало достоверного влияния на изучаемые показатели оксидативного стресса и активность антиоксидантных ферментов в головном мозге крыс с ВК. Значительное антиоксидантное действие в условиях ВК оказывал мексидол. Подобное действие мексидола не противоречит полученным ранее данным [22].

Антиоксидантное действие соединения С-3 также ярко проявлялось в отношении активности ГПР. Так, введение соединения С-3 приводило к увеличению активности ГПР на 4 сут эксперимента по сравнению с группой

Содержание стабильных метаболитов оксида азота и активность NO-синтазы в мозге крыс на 4 сутки после внутримозгового кровоизлияния и применения соединения С-3, пирацетама и мексидола, $M \pm t$

Группа животных	NO_2^- , мкмоль/г белка	Активность NO-синтазы, нмоль/ г ткани · мин	Нитротирозин, нмоль/г белка
Интактные (n = 10)	4,70 ± 0,37	2,77 ± 0,21	21,30 ± 1,34
Внутримозговое кровоизлияние (контроль) (n = 5)	12,00 ± 0,71	6,45 ± 0,37	112,30 ± 7,21
Внутримозговое кровоизлияние + соединение С-3 (n = 10)	6,70 ± 0,41*#0	3,38 ± 0,14*#0	54,90 ± 4,20*#0
Внутримозговое кровоизлияние + пирацетам (n = 6)	14,10 ± 1,00	6,40 ± 0,52	100,40 ± 8,23
Внутримозговое кровоизлияние + мексидол (n = 9)	9,00 ± 0,47*	5,13 ± 0,45*	78,7 ± 5,65*

контроля на 82,3 %. Введение мексидола повышало активность ГПР на 51 %. Применение пирацетама не оказывало достоверного влияния на активность ГПР (табл. 4). Мексидол проявлял более умеренный антиоксидантный эффект по сравнению с соединением С-3 на модели ВК. По всей видимости, это связано с тем, что мексидол выступает только в одной роли – роли скавенжера первичных и гидроксильных радикалов пептидов [5, 6]. Соединение С-3 кроме этого является мощным реактиватором антиоксидантных ферментов, особенно третьего эшелона защиты

клетки от оксидативного стресса – ГПР. Введение С-3 приводило к увеличению активности каталазы на 100 % и СОД на 95,6 % в головном мозге животных с ВК на 4 сут эксперимента.

По степени влияния на активность ГПР, каталазы и СОД соединение С-3 достоверно превосходит действие как мексидола, так и пирацетама.

В исследовании было установлено, что антиоксидантное действие соединения С-3 реализуется посредством протективного действия в отношении ГПР и обеспечения ее высокой активности в условиях оксидативного и нитрозирующего

Таблица 3

Показатели окислительной модификации белков в мозге крыс на 4 сутки после моделирования внутримозгового кровоизлияния и применения соединения С-3, пирацетама и мексидола, $M \pm t$

Группа животных	Продукты окислительной модификации белков, у. е./г белка	
	альдегидные (270 нм)	карбоксильные (363 нм)
Интактные (n = 10)	0,77 ± 0,07	0,25 ± 0,01
Внутримозговое кровоизлияние (контроль) (n = 5)	2,12 ± 0,11	0,84 ± 0,07
Внутримозговое кровоизлияние + С-3 (n = 10)	0,87 ± 0,07*#0	0,31 ± 0,02*#0
Внутримозговое кровоизлияние + пирацетам (n = 6)	1,87 ± 0,07	0,72 ± 0,05
Внутримозговое кровоизлияние + мексидол (n = 9)	1,07 ± 0,06*	0,52 ± 0,03*

Активность ферментов антиоксидантной системы в мозге крыс на 4 сутки после моделирования внутримозгового кровоизлияния и применения соединения С-3, пирацетама и мексидола, $M \pm m$

Группа животных	СОД, у. е./ мг белка · мин	Каталаза, мкат/мг белка	ГПР, мкмоль/мг белка · мин
Интактные (n = 10)	292,7 ± 12,6	7,45 ± 0,43	77,50 ± 4,70
Внутримозговое кровоизлияние (контроль) (n = 5)	123,6 ± 7,2	3,57 ± 0,23	44,70 ± 2,74
Внутримозговое кровоизлияние + соединение С-3 (n = 10)	241,8 ± 12,1*#0	6,37 ± 0,41*0	81,50 ± 4,52*#0
Внутримозговое кровоизлияние + пирацетам (n = 6)	137,8 ± 12,1	3,67 ± 0,37	41,80 ± 5,23
Внутримозговое кровоизлияние + мексидол (n = 9)	191,5 ± 9,71*	5,87 ± 0,21*	67,50 ± 1,21*

щего стресса. По всей видимости, этот механизм связан со снижением АФК-повреждающего действия Se-зависимого активного центра фермента. В пользу этой гипотезы свидетельствует установленный факт снижения на 4 сутки эксперимента активности синтазы оксида азота на 47,6 %, уменьшение стабильных метаболитов NO[•] - нитритов на 44,2 % и, самое важное – снижение нитротирозина на 51,1 % в головном мозге животных с ВК, получавших соединение С-3 (табл. 2). Пирацетам не оказывал влияния на показатели нитрозирующего стресса. Мексидол достоверно снижал активность синтазы оксида азота на 20,4 % и концентрацию нитротирозина на 30,0 % в цитозоле головного мозга, что не противоречит результатам предыдущих работ [22]. Известно, что значительные количества NO, наблюдаемые в постшемический период, могут взаимодействовать с гемовым железом и парными тиольными группами, образуя динитрозольный комплекс железа (DNIC). DNIC в отличие от NO, является более сильным нитрозирующим агентом, взаимодействует с тиолами белков, гистидином, аспаратом, глутамином, метионином, цистеином, глутатионом, образуя N- и S-нитрозотиолы [20]. Ранее было установлено [23], что DNIC значительно подавляет активность СОД, а также активность ферментов, регулирующих тиол-дисульфидное

равновесие в клетке – глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы и глутатионпероксидазы в суспензии нейронов.

По нашему мнению, механизм угнетения соединением С-3 реакций нитрозирующего стресса связан с особенностями его химической структуры, что позволяет сделать предположение о том, что исследуемое соединение при взаимодействии с NO-радикалом играет роль «спиновой ловушки». В качестве доказательства данной гипотезы были проведены расчеты квантово-механических энергетических дескрипторов граничных молекулярных орбиталей: энергия высшей занятой молекулярной орбитали ($E_{ВЗМО}$) и энергия низшей вакантной молекулярной орбитали ($E_{НВМО}$) в программном комплексе WinMorac (ver 7.2, дескрипторы – НОМОEnergy, LUMOEnergy, полуэмпирический метод AM1, с настройками: Calculation = SinglePoint, Wavefunction = ClosedShell (RHF)). Также были рассчитаны такие характеристики, как величина энергетической щели (разница энергий ВЗМО и НВМО); абсолютная жесткость – по формуле: $\eta = -(E_{ВЗМО} - E_{НВМО})/2$ и абсолютная электроотрицательность – по формуле: $\chi_0 = -(E_{ВЗМО} + E_{НВМО})/2$ (табл. 5)

Данные, представленные в таблице 5, коррелируют с проведенными ранее исследованиями [24] и показывают, что параметр $E_{ВЗМО}$ (дескриптор НОМОEnergy)

**Квантово-механические энергетические дескрипторы гидразида
8-бензиламинотеофиллинил-7-уксусной кислоты**

Соединение	$E_{ВЗМО}, eV$	$E_{НВМО}, eV$	Энергетическая щель, eV	η, eV	χ_0, eV
C-3	-8,69238	-0,426908	-8,265547	4,132773	4,559644

в наибольшей степени влияет на величину АОА. Механизм взаимодействия соединения C-3 и NO может быть реализован за счет переноса электрона с высшей занятой молекулярной орбитали «спиновой ловушки» на низшую вакантную молекулярную орбиталь радикала с образование более стабильного радикального комплекса.

Выводы

1. Курсовое применение соединения C-3 в дозе 100 мг/кг внутривенно животным с ВК приводило к достоверному снижению летальности и уменьшению неврологических нарушений по шкале Stroke-index как на 4 сут (острый период патологии), так и на 18 сут (восстановительный период патологии) эксперимента.

2. Введение соединения C-3 животным с ВК приводило на 4 сутки эксперимента к торможению реакций оксидативного и нитрозирующего стрессов в головном мозге – снижению маркерных продуктов – АФГ, КФГ и нитротирозина, к повышению активности ферментов антиоксидантной защиты – СОД, ГПР и каталазы, к нормализации показателей нитроксидергической системы головного мозга – снижению активности NO-синтазы и концентрации стабильных метаболитов NO.

3. Механизм антиоксидантного действия соединения C-3 связан с особенностями его химической структуры, которое может быть «спиновой ловушкой», что подтверждается квантово-механическими расчетами энергетических дескрипторов граничных молекулярных орбиталей.

1. Гомазков О. А. Старение мозга и нейротрофины / О. А. Гомазков. – Москва : Издательство ИКАР, 2011. – 93 с.
2. Медицина неотложных состояний / [Никонов В. В., Беленичев И. Ф., Бухтиярова Н. В., Феськив А. Э.]. – Донецк : Издатель Заславский, 2012. – 512 с.
3. Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects/ Mary C. McKenna, Rolf Gruetter, Ursula Sonnwald [et al.]. – Elsevier, Inc., 2008. – 757 p.
4. Метаболитотропные препараты / [Мазур И. А., Чекман И. С., Беленичев И. Ф., Горчакова Н. А.]. – Москва : Ассоциация Медицинская Литература ЗАО, 2007. – 304 с.
5. Нейропротекция и нейропластичность / Беленичев И. Ф., Черный В. И. Бухтиярова Н. В. [и др.]. – Киев : Логос, 2015. – 512 с.
6. Рациональная нейропротекция / [Беленичев И. Ф., Черный В. И. Бухтиярова Н. В., Павлов С. В.]. – Донецк : Издательский Дом Заславского, 2008. – 264 с
7. Kelly S. Neuroprotection: heat shock proteins / S. Kelly, M. A. Yenari // Curr. Med. Res. Opin. – 2012. – V.18, № 2. – P. 55–60.
8. Arshad Majid. Neuroprotection in Stroke: Past, Present, and Future / Arshad Majid // ISRN Neurology. – 2014. – V. 14. – P. 1–18
9. Anzilotti C. Ischemic tolerance modulates TRAIL expression and its receptors and generates a neuroprotected phenotype / C. Anzilotti, A. Vinciguerra, O. Cuomo // Cell Death Dis. – 2014. – V.5, №7. – P. 1331-1339.
10. Belenichev I. F. Disturbance of HSP70 Chaperone Activity is a possible mechanism of Mitochondrial Dysfunction / I. F. Belenichev, S. V. Pavlov, N. V. Buchtiarova // Neurochem. Journal. – 2011. – V. 5, № 4. – P. 251–256.
11. Sauvage Maria-Angeles C. The neuroprotective agent CNTF decreases neuronal metabolites in the rat striatum: an *in vivo* multimodal magnetic resonance imaging study / C. Sauvage Maria-Angeles // Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. – 2015. – V. 35. – P. 917–921.
12. Антиоксиданты: клинико-фармакологический аспект / И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев, Н. А. Горчакова, Н. В. Бухтиярова // Український медичний часопис. – 2014. – № 1 (99). – С. 22–28.
13. Research of antioxidant properties of theophyllinyl-7-acetic acid derivatives / K. Aleksandrova, I. Belenichev, A. Shkoda [et al] // Oxid Antioxid Med Sci. – 2014. – № 3 (3). – С. 187–194.
14. Исследование биологических свойств нового производного теофилина – соединения C-3 / Д. Н. Юрченко, Е. В. Александрова, А. С. Шкода [и др.] // Вестник новых мед. технологий. – 2013. – Т. 20, № 1. – С. 115–117.

15. Исследование мембранопротекторных свойств и влияния на энергетический обмен нейронов нового производного ксантина С-3 в условиях развития глобальной ишемии головного мозга / Е. В. Александрова, Д. Н. Юрченко, Н. И. Романенко [и др.] // Укр. биофармац. журн. – 2013. – № 4 (27). – С. 54–58.
16. Carmichael S. T. Rodent models of focal stroke: size, mechanism and purpose / S. T. Carmichael // NeuroRX. – 2005. – № 2 (3). – P. 396–409.
17. McGrow C. P. Experimental Cerebral Infarction Effects of Pentobarbital in Mongolian Gerbils / C. P. McGrow // Arch. Neurol. – 1977. – V. 34, № 6. – P. 334–336.
18. Halliwell B. Molecular Biology of Free Radicals in Human / B. Halliwell. – St. Lucia London: OICA Int., 1999. – 352 p.
19. Губский Ю. И. Продукты свободнорадикального перекисного окисления и методы их идентификации / Губский Ю. И., Беленичев И. Ф., Левицкий Е. Л. // Совр. пробл. токсикол. – 2002. – № 4. – С. 9–14.
20. Handbook of Biochemistry and Molecular Biology, 4th Edition / Roger L. Lundblad, Fiona Macdonald. – CRC Press, 2010. – 1098 p.
21. Зайцев В. М. Прикладная медицинская статистика : Учебное пособие / В. М. Зайцев, В. Г. Лифляндский, В. И. Маринкин. – [2-е изд.]. – Санкт-Петербург : ООО «Изд-во ФОЛИАНТ», 2006. – 432 с.
22. New xanthine derivative B-YR-2 as antioxidant modulator of post-stroke damage of sensorimotor cortex neurons in rats / I. F. Belenichev, K. V. Aleksandrova, S. G. Nosach [et al.] // Elixir Pharmacy. – 2014. – № 76. – P. 28286–28292
23. Belenichev I. F. The Thiol-Disulfide Balance and the Nitric Oxide System in the Brain Tissue of Rats Subjected to Experimental Acute Impairment of Cerebral Blood Flow: The Therapeutic Effects of Nootropic Drugs / Belenichev I. F., Gorbacheva S. V., Bukhtiyarova N. V. // Neurochemical Journal. – 2014. – V. 8, № 1. – P. 24–27.
24. Новые производные 3-бензилксантина как возможные модуляторы уровня оксида азота / М. В. Дьячков, А. С. Шкода, Е. В. Александрова [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2013 – Т. 20, № 2. – С. 366–368.

С. Г. Носач, И. Ф. Беленичев, Е. В. Александрова, С. В. Левич, В. П. Рыженко
Антиоксидантный механизм нейропротективного действия производного
3-метилксантина (соединения С-3) в условиях внутримозгового
кровоизлияния

Острое нарушение мозгового кровообращения по типу геморрагического инсульта сопровождается нитрозирующим и оксидативным стрессом, приводит к развитию нейроапоптоза и гибели клеток. В связи с этим актуальным является поиск новых нейропротекторов с антиоксидантным механизмом действия среди скавенджеров активных форм кислорода, NO и свободных радикалов.

Цель исследования – изучение нейропротективной активности производного 3-метилксантина (соединения С-3) в сравнении с пирацетамом и антиоксидантом-нейропротектором – мексидолом при моделировании внутримозгового кровоизлияния.

Оценивали выраженность неврологического дефицита у экспериментальных животных, а также следующие биохимические показатели в ткани мозга: содержание продуктов окислительной модификации белков, активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы), активность NO-синтазы и содержание нитратов и нитротирозина.

Показано, что курсовое применение соединения С-3 в дозе 100 мг/кг внутривенно животным с внутримозговым кровоизлиянием приводило к достоверному снижению летальности и уменьшению неврологических нарушений как в острый, так и в восстановительный период внутримозгового кровоизлияния. Введение соединения С-3 приводило к торможению реакций оксидативного и нитрозирующего стресса, повышению активности ферментов антиоксидантной защиты, к нормализации показателей нитроксидергической системы головного мозга.

На основании полученных результатов был предложен механизм антиоксидантного действия соединения С-3, связанный с особенностями его химической структуры.

Ключевые слова: геморрагический инсульт, нейропротекция, 3-метилксантин

С. Г. Носач, І. Ф. Бєленічев, К. В. Александрова, С. В. Левіч, В. П. Рижєнко
Антиоксидантний механізм нейропротективної дії похідного 3-метилксантину
(сполуки С-3) за умов внутрішньомозгового крововиливу

Гостре порушення мозкового кровообігу за типом геморагічного інсульту супроводжується нітрозуючим і оксидативним стресом, що призводить до розвитку нейроапоптозу й загибелі клітин. У зв'язку з цим актуальним є пошук нових нейропротекторів з антиоксидантним механізмом дії серед скавенджерів активних форм кисню, NO та вільних радикалів.

Мета дослідження – вивчення нейропротективної активності похідного 3-метилксантину (сполуки С-3) порівняно з пірацетамом і антиоксидантом-нейропротектором – мексидолом за моделювання внутрішньомозкового крововиливу.

Оцінювали ступінь неврологічного дефіциту в експериментальних тварин, а також наступні біохімічні показники в тканині мозку: уміст продуктів окиснювальної модифікації білків, активність антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази), активність NO-синтази та вміст нітратів і нітротирозину.

Показано, що курсове застосування сполуки С-3 у дозі 100 мг/кг внутрішньошлунково тваринам з внутрішньомозковим крововиливом призводило до достовірного зменшення летальності та неврологічних порушень як у гострий, так і у відновний період внутрішньомозкового крововиливу. Введення сполуки С-3 призводило до гальмування реакцій оксидативного та нітрозуючого стресу, підвищення активності ферментів антиоксидантного захисту, нормалізації показників нітросидергічної системи головного мозку.

На основі одержаних результатів було запропоновано механізм антиоксидантної дії сполуки С-3, пов'язаний з особливостями його хімічної будови.

Ключові слова: геморагічний інсульт, нейропротекція, 3-метилксантин

S. G. Nosach, I. F. Belenichev, K. V. Aleksandrova, S. V. Levich, V. P. Ryzhenko
Antioxidant mechanism of neuroprotective action of 3-methylxanthine derivative (compound C-3) in conditions of intracerebral hemorrhage

Acute cerebrovascular accident by hemorrhagic stroke type leads to nitrosating and oxidative stress, neuronal apoptosis development and cell death. Thus, the search of novel neuroprotective agents with antioxidant mechanism of action among scavengers of reactive oxygen species, NO and free radicals is actual.

The goal of the research was to study the neuroprotective activity of a 3-methylxanthine derivative (compound C-3) in comparison with Piracetam and neuroprotector-antioxidant – Mexidol in modeling of intracerebral hemorrhage.

There were evaluated the indices of neurological deficits in experimental animals and the following biochemical parameters in the brain tissue: the content of products of oxidative modification of proteins, activities of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase), activity of NO-synthase and also nitrates and nitrotyrosine contents.

Course administration of hydrazide of 8-benzylaminotheophyllinyl-7-acetic acid (compound C-3) at a dose of 100 mg / kg intragastrically to animals with intracerebral hemorrhage led to a significant decreasing of mortality and neurological disorders in the acute and in the recovery period of intracerebral hemorrhage. Administration of compound C-3 led also to the inhibition of reactions of oxidative and nitrosative stresses, to increasing the antioxidant enzymes activities, to the normalization of nitrenergic system of the brain.

Based on these results, mechanism of antioxidant action of compound C-3, associated with the peculiarities of its chemical structure, was proposed.

Key words: hemorrhagic stroke, neuroprotection, 3-methylxanthine

Поступила: 11 ноября 2015 г.

Контактное лицо: Беленичев Игорь Федорович, профессор, доктор биологических наук, кафедра фармакологии и медицинской рецептуры, Запорожский государственный медицинский университет, д. 26, просп. Маяковского, г. Запорожье, 69035. Тел.: + 38 0 612 34 27 41.