

УДК: 615.384:616.831-005.4-001.6

**А.І. Семененко**Вінницький національний медичний  
університет ім. М.І. Пирогова**ВПЛИВ ІНФУЗІЙНИХ РОЗЧИНІВ НА  
ДИНАМІКУ ПОКАЗНИКІВ ОКСИДАНТНО-  
АНТИОКСИДАНТНОЇ РІВНОВАГИ ЗА  
УМОВ ГОСТРОЇ ЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ  
У ЩУРІВ**

**Ключові слова:** гостре порушення мозкового кровообігу, НАЕС-LX-5 %, волювен, 0,9% розчин NaCl.

**Резюме.** У дослідях на щурах з модельним гострим порушенням мозкового кровотоку (двостороння перев'язка внутрішніх сонних артерій) встановлено, що застосування НАЕС-LX-5 % та волювену в дозах 2,5 мл/кг 2 рази/день (5,0 мл/кг на добу), щодоби через кожні 12 год протягом 7-ми діб порівняно з тваринами, що отримували 0,9 % розчин NaCl в аналогічному дозовому режимі супроводжувалося більш значним відновленням динаміки оксидантно-антиоксидантної рівноваги ( $p < 0,05$ ). Фармако-терапевтичний ефект, що був отриманий в експерименті від лікування інфузійними розчинами є підставою для більш поглибленого вивчення їх захисної дії на головний мозок при гострому порушенні мозкового кровотоку.

**Вступ**

Всі основні патогенетичні ланки, що супроводжують ішеміко-гіпоксичне пошкодження головного мозку, поряд із зниженням енергоємності клітин мозку є пусковим механізмом для початку процесів оксидативного стресу - перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та окисної модифікації білків (ОМБ) [8; 9].

Суттєвий захист нейронів від токсичної дії продуктів ПОЛ та ОМБ в умовах ішемії реалізується за рахунок функціонування ферментативної антиоксидантної ланки, що складається з антирадикальних, антиокисних, оксидоредуктазних та інших ферментів (каталаза, супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза) [10; 11].

При ішемічному враженні нейронів недостатня кількість складових даної системи антиоксидантного захисту спричиняє прогресування процесів ПОЛ та ОМБ та, як наслідок, збільшення зони інфаркту нервової тканини [7].

З огляду на це значний інтерес представляє дослідження впливу окремої курсової терапії інфузійними розчинами різного складу на стан показників оксидантно-антиоксидантної рівноваги в ішемізованому головному мозку.

**Мета дослідження**

Охарактеризувати вплив волювену та НАЕС-LX-5 % (zareestrovаний в Україні в 2013 році під назвою Гекотон) в порівнянні з 0,9 % розчином NaCl на стан показників оксидантно-антиоксидантної рівноваги головного мозку щурів на

моделі ГПМК.

**Матеріал та методи**

Досліди проведено на 84 білих щурах-самцях масою 160-170 г, які перебували в стандартних умовах віварію, з дотриманням етичних норм проведення експериментальних досліджень згідно з "Загальними принципами роботи на тваринах", затвердженими I Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) та Законом України "Про захист тварин від жорстокого поводження" від 26.02.2006 р. Гостре порушення мозкового кровообігу (ГПМК) моделювали шляхом двобічної перев'язки внутрішніх сонних артерій. Розчини НАЕС-LX-5% та волювен вводили внутрішньовенно в умовно ефективній дозі по 2,5 мл/кг 2 рази/день (5,0 мл/кг на добу). Перше введення проводили через 30 хв після ГПМК і далі щодоби через кожні 12 год впродовж 7-ми діб. В якості референс-препарату застосовували 0,9 % розчин NaCl в аналогічній дозі і у тому ж режимі. Тварини дослідної групи, яким моделювали ГПМК не отримували жодної терапії (ГПМК без лікування).

Вміст дієнових кон'югатів (ДК) визначали спектрофотометричним методом [4], малонового діальдегіду (МДА) - за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [1], карбонільних груп білків (КГП) - за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразинном [6].

Активність супероксиддисмутази (СОД) оцінювали за відсотком гальмування окиснення

кверцетину [3], а каталази - за швидкістю деградації гідроген пероксиду [5]. Активність глутатіонпероксидази (ГПО) визначали спектрофотометричним методом за накопиченням окисненого глутатіону [2].

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерія Ст'юдента, зміни показників вважали вірогідними при  $p < 0,05$ .

### Обговорення результатів дослідження

Встановлено, що за умов експериментального ГПМК у щурів потенціювались процеси перекисного окиснення ліпідів та окисної модифікації білків в структурах головного мозку (див. табл. 1).

Фармакотерапія ішемічного інсульту (табл. 1) розчинами НАЕС-LX-5 % та волювеном статистично вірогідно зменшувала активність процесів пероксидації ліпідів та окисної деструкції білків,

ініційованої реакційноздатними кисневими інтермедіатами. Так, експериментальна терапія ГПМК розчинами НАЕС-LX-5 % та волювеном на 4-ту добу інсульту супроводжувалася зменшенням рівня ДК, МДА та КГП відносно щурів групи контрольної патології відповідно: ДК на 24,9 % та 26,4 %; МДА на 39,4 % та 38,1 %; КГП на 28,5 % та 27,7 %. Оцінюючи дані, отримані у ході вивчення динаміки рівня ДК, МДА та КГП щурів з ГПМК на 7-му добу інсульту, нами встановлено, що введення тваринам з ГПМК розчинів НАЕС-LX-5 % та волювеном сприяє достовірному зменшенню рівня ДК відносно групи контрольної патології в середньому відповідно на 34,9 та 36,3%; МДА - 49,1 та 48,0 %; КГП - 33,9 та 32,1 %. З отриманих даних слід зауважити, що терапія НАЕС-LX-5 % та волювеном практично в однаковій мірі зменшувала активність процесів пероксидації ліпідів та окисної деструкції білків.

Таблиця 1

Вплив досліджуваних розчинів на вміст продуктів пероксидації ліпідів та протеїнів у мозку щурів за умов ГПМК у різні терміни експерименту ( $M \pm m$ ,  $n=7-10$ )

№ з/п	Групи тварин	Термін експерименту	Показники		
			ДК, мкмоль / г сухої тканини	МДА, мкмоль / г сухої тканини	КГП, нмоль / мг протеїну
1	Інтактні тварини	4 доба	25,0±0,70	13,1±0,41	4,55±0,13
		7 доба	23,8±0,67	12,8±0,36	4,45±0,09
2	ГПМК	4 доба	46,9±2,42* (+87,6 %)	29,9±0,66* (+128,2 %)	7,67±0,22* (+68,6 %)
		7 доба	41,8±2,01* (+75,6 %)	27,7±0,51* (+116,4 %)	7,29±0,20* (+63,8 %)
3	ГПМК + 0,9%NaCl	4 доба	40,0±1,85*# [-14,7 %]	24,1±0,53*# [-19,4 %]	6,58±0,21*# [-14,2 %]
		7 доба	33,2±1,23*# [-20,6 %]	20,5±0,65*# [-26,0 %]	6,12±0,28*# [-16,0 %]
4	ГПМК + волювен	4 доба	34,5±1,31*#^ [-26,4 %] {-13,7 %}	18,5±1,33*#^ [-38,1 %] {-23,2 %}	5,54±0,21*#^ [-27,7 %] {-15,8 %}
		7 доба	26,6±1,15*#^ [-36,3 %] {-19,8 %}	14,4±0,51*#^ [-48,0 %] {-29,7 %}	4,95±0,13*#^ [-32,1 %] {-19,1 %}
5	ГПМК+ НАЕС-LX-5%	4 доба	35,2±1,28*#^ [-24,9 %] {-12,0 %}	18,1±1,25*#^ [-39,4 %] {-24,9 %}	5,48±0,21*#^ [-28,5 %] {-16,7 %}
		7 доба	27,2±1,11*#^ [-34,9 %] {-18,0 %}	14,1±0,46*#^ [-49,1 %] {-31,2 %}	4,82±0,14*#^ [-33,9 %] {-21,2 %}

#### Примітки:

- 1.\*-  $p < 0,05$  відносно відповідної групи інтактних тварин;
- 2.# -  $p < 0,05$  відносно відповідної групи тварин з ГПМК;
- 3.^ -  $p < 0,05$  відносно групи з 0,9 % розчином NaCl.
- 4.( ) - % зміни відповідного показника відносно такого в інтактних тварин,
- 5.[ ] - % зміни відносно показника в групі контролю
- 6.{ } - % зміни відносно показника в групі з 0,9 % розчином NaCl

Таблиця 2

Вплив досліджуваних розчинів на активність антиоксидантних ензимів у мозку щурів за умов ГПМК у різні терміни експерименту ( $M \pm m$ ,  $n=7-10$ )

№ з/п	Групи тварин	Термін експерименту	Показники		
			ГПО, мкмоль / хв на 1 мг протеїну	СОД, ум.од / мг протеїну	Каталаза, мккатал / мг протеїну
1	Інтактні тварини	4 доба	65,1±1,75	2,33±0,06	6,15±0,17
		7 доба	65,8±1,58	2,39±0,07	6,20±0,08
2	ГПМК	4 доба	34,1±2,01* (-47,6 %)	1,20±0,09* (-48,5 %)	3,40±0,19* (-44,7 %)
		7 доба	37,5±1,85* (-43,0 %)	1,32±0,08* (-44,7 %)	3,65±0,20* (-41,1 %)
3	ГПМК + 0,9% NaCl	4 доба	37,1±1,35* [+8,8 %]	1,45±0,05*# [+20,8 %]	3,97±0,16*# [+16,7 %]
		7 доба	41,8±1,22* [+11,4 %]	1,63±0,07*# [+23,5 %]	4,40±0,16*# [+20,5 %]
4	ГПМК + волювен	4 доба	45,2±1,50*#^ [+32,5 %] {+21,8 %}	1,77±0,11*#^ [+47,5 %] {+22,0 %}	4,56±0,19*#^ [+34,1 %] {+14,8 %}
		7 доба	56,4±1,46*#^ [+50,4 %] {+34,9 %}	2,12±0,06*#^ [+60,6 %] {+30,0 %}	5,42±0,15*#^ [+48,5 %] {+23,2 %}
5	ГПМК+ HAES LX-5%	4 доба	46,1±2,26*#^ [+35,2 %] {+24,2 %}	1,85±0,13*#^ [+54,1 %] {+27,5 %}	4,59±0,15*#^ [+35,0 %] {+15,6 %}
		7 доба	58,9±1,54*#^ [+57,0 %] {+40,9 %}	2,17±0,04*#^ [+64,4 %] {+33,1 %}	5,60±0,13*#^ [+53,4 %] {+27,2 %}

Примітки:

- 1.\*-  $p < 0,05$  відносно відповідної групи псевдооперованих тварин;
- 2.# -  $p < 0,05$  відносно відповідної групи тварин з ГПМК;
- 3.^ -  $p < 0,05$  відносно групи з 0,9 % розчином NaCl.
4. ( ) – % зміни відповідного показника відносно такого в інтактних тварин,
5. [ ] – % зміни відносно показника в групі контролю
6. { } – % зміни відносно показника в групі з 0,9 % розчином NaCl

При використанні розчинів HAES-LX-5 % та волювену протягом 4 діб рівень ДК зменшувався відносно групи лікованих 0,9 % розчином NaCl відповідно на 12,0 та 13,7 %, МД - на 24,9 та 23,2%, КГП - на 16,7 та 15,8 %. В той же час 7-денне застосування розчинів HAES-LX-5 % та волювену викликало більш виразний вплив на показники окисної деструкції ліпідів та білків: зниження вмісту ДК відповідно становило 18,0 та 19,8 %, МД -31,2 та 29,7 %, КГП - на 21,2 та 19,1%, порівняно з такими ж показниками в групі тварин лікованих 0,9 % розчином NaCl.

Оцінюючи активність антиоксидантних ензимних систем, які залучені до інактивації активних кисневих дериватів у мозку щурів, з'ясувалося, що за умов ішемічного інсульту в мозку щурів знижувалася здатність до дисмутації супероксидного-аніон радикалу за участі СОД, а також інактивації гідроген пероксиду за участі ГПО та каталази (див. табл. 1).

Фармакотерапія ГПМК розчинами HAES-LX-

5 % та волювену вже на 4-ту добу інсульту супроводжувалася збільшенням активності ГПО, СОД та каталази відносно щурів з ГПМК без лікування в середньому відповідно на 35,2 та 32,5 %; 54,1 та 47,5 %; 35,0 та 34,1 %. На 7-му добу після ішемії головного мозку, терапія щурів розчинами HAES-LX-5 % та волювену ще більше сприяла зростанню активності ГПО, СОД та каталази порівняно з тваринами ГПМК без лікування в середньому на 57,0 та 50,4 %; 64,4 та 60,6 %; 53,4 та 48,5 % відповідно. Оцінюючи показники антиоксидантної системи у групах щурів з ГПМК, яким проводили інфузію HAES-LX-5 % та волювену, можна дійти висновку, що за спроможністю підвищувати антиоксидантний захист у гострий період інсульту, терапія розчином HAES-LX-5 % була дещо ефективніша за інфузію волювену (див. табл. 2).

Фармакотерапія ГПМК з використанням інфузійних розчинів HAES-LX-5 % та волювену зменшувала масштабність змін активності анти-

оксидантних ензимів, індукованих ішемічним ураженням клітин головного мозку (див. табл. 2). Встановлено, що на 4 добу введення розчинів НАЕС-LX-5 % та волювену відмічалось відповідне достовірне підвищення активності ГПО (на 24,2 та 21,8 %), СОД (на 27,5 та 22,0 %) та каталази (на 15,6 та 14,8 %), порівняно з групою тварин, які отримували 0,9 % розчин NaCl. При 7-денній терапії реєстрували більш виразне зростання активності антиоксидантних ензимів відповідно: ГПО (на 40,9 та 34,9 %), СОД (на 33,1 та 30,0 %) та каталази (на 27,2 та 23,2%), порівняно з такими ж показниками в групі тварин, лікованих 0,9 % розчином NaCl.

### Висновки

1. Лікування шурів із модельною церебральною ішемією розчинами НАЕС-LX-5% та волювену призводить до зменшення активності процесів пероксидації ліпідів та окисної деструкції білків ( $p < 0,05$ ) та сприяє нормалізації активності антиоксидантних ензимів в клітинах ішемізованого головного мозку у шурів ( $p < 0,05$ ).

2. Порівняно з 0,9 % розчином NaCl, застосування НАЕС-LX-5 % та волювену супроводжувалося більш суттєвим зменшенням активності процесів пероксидації ліпідів та окисної деструкції білків, а також покращанням рівня антиоксидантних ензимів в ішемізованому головному мозку тварин ( $p < 0,05$ ).

### Перспективи подальших досліджень

Терапевтичний ефект, отриманий в експерименті від інфузійної терапії розчинами НАЕС-LX-5 % та волювену, є підставою для більш поглибленого вивчення їх захисної дії на головний мозок при ГПМК.

**Література.** 1. Владимиров Ю.В. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.В. Владимиров, А.И. Арчаков. - М.: Наука, 1972. - 252 с. 2. Власова С.Н. Активность глутатион-зависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей / С.Н. Власова, Е. И. Шабунина, И. А. Перслегина // Лаб. дело. - 1990. - № 8. - С. 19-22. 3. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцитина / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж.В. Ковалева // Вопр. мед. химии. - 1990. - №2. - С. 88-91. 4. Костюк В.А. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Е.Ф. Лунец // Вопросы мед. химии. - 1984. - № 4. - С. 125 - 127. 5. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук [и др.] // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16-19. 6. Пат. України на винахід №58110А, МПК 7 А61К35/16. Спосіб визначення карбонільних сполук в сироватці крові / С.В. Шевчук, О.О. Пентюк, Р.А. Мусін, Н.В. Заїчко; заявник та патентовласник Український державний НДІ реабілітації інвалідів МОЗ України. - № 2002107890; заявл. 04.10.2002; опубл. 15.07.2003; Бюл. № 7. - 2 с. 7. Рациональная нейропротекция / [Беленичев И. Ф., Черный В. И., Колесник Ю. М. и др.]. - Донецк: Изд. Дом Заславский, 2009. - 261 с. 8. Трошин В.Д. Острые нарушения мозгового кровообращения : руководство / В. Д. Трошин, А. В. Густов. - [3-е изд., перераб. и доп.]. - М.: ООО "Медицинское информационное агентство", 2006. - 432 с. 9. Coyle J. T. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders / J. Coyle, P. Puttfarcken // Science - 2008. - Vol. 262. - P. 689-695. 10. Detection of hydroxyl radicals in rat striatum during transient focal cerebral ischemia: possible implication in tissue damage / F. Lancelot, J. Callebert, M. L. Revaud [et al.] // J. Neuro. Left. - 2008. - Vol. 19. - P. 85-88. 11. Evaluation of free radical production, mitochondrial membrane potential and cytoplasmic calcium in mammalian neurons by flow cytometry / F. X. Sureda, C. Gabriel, J. Comas [et al.] // Brain Res. Brain Res. Protoc. - 2009. - Vol. 4. - P. 280-287.

**ВЛИЯНИЕ ИНФУЗИОННЫХ РАСТВОРОВ НА ДИНАМИКУ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО РАВНОВЕСИЯ В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ У КРЫС**

*А.И. Семененко*

**Резюме.** В опытах на крысах с модельным острым нарушением мозгового кровотока (двусторонняя перевязка внутренних сонных артерий) установлено, что применение НАЕС-LX-5 % и волювена в дозах 2,5 мл/кг 2 раза/день (5,0 мл/кг в сутки), ежедневно через каждые 12 ч в течение 7-ми суток по сравнению с животными, получавшими 0,9 % раствор NaCl в аналогичном дозовом режиме сопровождалось более значительным восстановлением динамики оксидантно-антиоксидантного равновесия ( $p < 0,05$ ). Фармакотерапевтический эффект, который был получен в эксперименте от лечения инфузионными растворами является основанием для более углубленного изучения их защитного действия на головной мозг при остром нарушении мозгового кровотока.

**Ключевые слова:** острое нарушение мозгового кровообращения, НАЕС-LX-5 %, волювен, 0,9 % раствор NaCl.

### INFLUENCE OF INFUSION SOLUTIONS ON THE DYNAMICS OF INDICATORS OF OXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE UNDER CONDITIONS ACUTE CEREBRAL ISCHEMIA IN RATS

*A.I. Semenenko*

**Abstract.** In experiments on rats with model of acute ischemic disorder of cerebral circulation (bilateral occlusion of internal carotid arteries) it was established that introduction of НАЕС-LX-5 % and Voluven at doses of 2.5 ml/kg, 2 times/day (5.0 ml/kg day), every day, every 12 hours for 7 days was accompanied by more significant recovery of the dynamics of oxidant-antioxidant balance ( $p < 0.05$ ) in comparison with animals treated with 0.9 % solution of NaCl in the same dose regime. Pharmacological effect which was received in the experiment with treatment of infusion solutions is the basis for further deeper studying of their protective effects on the brain in acute disorder of cerebral circulation.

**Key words:** acute cerebrovascular accident, НАЕС-LX- 5%, voluven, 0.9 % solution of NaCl.

**National Pirogov Memorial Medical University**

*Clin. and experim. pathol. - 2014. - Vol.13, №1 (47). - P.119-122.*

*Надійшла до редакції 01.03.2014*

*Рецензент – проф. Р.Є.Булик*

*© А.І.Семененко, 2014*