

УДК 615.225 : 616.831-005:599.323.4

О.М. ДенисюкВінницький національний медичний
університет ім. М.І. Пирогова**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ФЛОКАЛІНУ НА
ВИРАЖЕНІСТЬ НЕВРОЛОГІЧНОГО
ДЕФІЦИТУ У ЩУРІВ В УМОВАХ
ГОСТРОГО ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО
КРОВООБІГУ****Ключові слова:** гостре порушення
мозкового кровообігу, флокалін,
мексидол, пірацетам,
церебропротекторна дія.**Резюме.** У дослідях на лабораторних щурах встановлено, що N-(-4-дифторометоксифеніл)-N'-1,2,2-триметилпропіл-N"-ціаногуанідин (флокалін) в дозі 1,0 мг/кг, як і мексидол (100,0 мг/кг) та пірацетам (200,0 мг/кг), здатен зменшувати неврологічні розлади, викликані гострим порушенням мозкового кровообігу (двобічна оклюзія загальних сонних артерій). За величиною терапевтичного ефекту в заданих умовах експерименту флокалін співставлявся з препаратами порівняння.**Вступ**

Розповсюдженість захворювань, пов'язаних із цереброваскулярною патологією, за останні роки набула загрозливого масштабу в усьому світі. Так, гостре порушення мозкового кровообігу (ГПМК) займає друге місце у списку основних причин смерті на фоні значного помолодшання даної патології. Слід зазначити, що лише 10-20 % хворих повертаються до того рівня повсякденної активності, який був у них до захворювання, 20-40 % потребують сторонньої допомоги в побуті. [4, 8]. Це пов'язано з розвитком геміпарезу й інших рухових розладів, виникненням цілого комплексу мнестично-когнітивних, вербальних та емоційних порушень: у 4-6 % пацієнтів у наступні шість місяців розвивається деменція, через 5 років цей показник збільшується до 20-25 % [7].

Незважаючи на певні успіхи, які досягнуті в медицині на сьогоднішній день, проблема лікування ГПМК залишається до кінця не вирішеною. Нині активно ведеться пошук речовин з церебропротекторною дією, які були б придатні для створення на їх основі більш ефективних та безпечних церебропротекторів.

У цьому плані нашу увагу привернула група активаторів калієвих каналів, а саме: похідне гуанідину N-(-4-дифторометоксифеніл)-N'-1,2,2-триметилпропіл-N"-ціаногуанідину (флокалін), синтезований в Інституті органічної хімії НАН України (м. Київ), який досліджується як церебропротектор.

Мета дослідження

Охарактеризувати вплив флокаліну в порівнянні з мексидолом і пірацетамом на динаміку неврологічних розладів при експериментальній гострій ішемії головного мозку у щурів.

Матеріал і методи

Досліди проведено на 60 статевозрілих щурах обох статей масою 180-200 г. Тварини утримувалися в стандартних умовах віварію з доступом до води та їжі ad libitum. Досліди виконували відповідно до положень "Європейської конвенції по захисту тварин, яких використовують для експериментальних і інших наукових цілей" (Страсбург, 1985). Гостре порушення мозкового кровообігу моделювали шляхом двобічної перев'язки загальних сонних артерій в умовах етамінал-натрієвого наркозу (40 мг/кг) [9]. Тварини були розподілені на 5 груп: I - псевдооперовані щурі, яким здійснювали доступ до сонної артерії, але не перев'язували її; II (контроль) - тварини з ГПМК, яким вводили 0,9% NaCl; III, IV та V групи - щурі з ГПМК, ліковані, відповідно, флокаліном (1 мг/кг, в/о), мексидолом (100 мг/кг, в/о) та пірацетамом (200 мг/кг, в/о). Лікарські засоби вводили двічі на добу протягом двох тижнів в терапевтично ефективних дозах, запозичених із літератури. Ефективність досліджуваних засобів оцінювали на 5-ту та 15-ту добу експерименту. Такі терміни дослідження були обрані, оскільки згідно літературних даних, на 5-ту добу відбуваються найбільш виразні зміни в ішемізованому головному мозку та відмічається пік смертності, а на 15-ту добу розпочинаються процеси відновлення [2].

Для встановлення церебропротекторної дії використовували тести, що дозволяють оцінити неврологічний статус у тварин: неврологічний дефіцит, рухову і орієнтувально-дослідницьку поведінку та мнестичну функцію.

Неврологічний дефіцит оцінювали за шкалою stroke-index по С. Р. McGrow [3], реєструючи кількість тварин з легкою симптоматикою (до 2,5 балів) і важкою симптоматикою (від 3 і більше).

Крім цього перевіряли м'язовий тонус щурів у тесті підтягування на горизонтальній перекладині та координацію рухів тварин за допомогою rotarod-test [5] - визначали відсоток тварин у кожній групі, які втрималися, відповідно, на стрижні та перекладині по відношенню до загальної кількості щурів у відповідній групі.

Рухову й орієнтувально-дослідницьку поведінку фіксували в тесті "Відкритого поля" [1] - реєстрували горизонтальну активність (кількість переміщень по квадратах підлоги), вертикальну активність (кількість "стійок" на задніх лапах) та кількість заглядань в отвори протягом 3 хв експерименту.

Статистичну обробку цифрових даних проводили за методом варіаційної статистики з визначенням t-критерію Стьюдента в разі нормального розподілу, а також за методом Мана-Уїтні в разі його відсутності [6].

Обговорення результатів дослідження

Проведене дослідження показало, що в заданих умовах експерименту в контрольній групі тварин на 5-ту добу спостерігали високий рівень летальності (70 %) та виразні неврологічні зміни у тварин, що вижили (рис. 1): бокове положення тварин, в'ялість, загальмованість, птоз, паралічі, парези, порушення координації рухів, манежні рухи. Відмічали низький м'язовий тонус і порушення координації рухів: на перекладині втрималося 17 % тварин, а на стрижні, що обертається, - 33 %. Крім того, після операції у тварин з ішемією головного мозку протягом перших двох-трьох діб відмічалось зменшення потреби в їжі і зниження маси тіла.

На 15-ту добу експерименту спостереження за щурами контрольної групи показало певне пок-

ращання їх стану. Тварини набирали вагу, були більш активними, неврологічні порушення менш виразними, хоча повного відновлення неврологічного статусу не відбувалося. Так, бал за шкалою McGrow склав $6,3 \pm 0,4$, а кількість тварин, що втрималися на перекладині і стрижні становила, відповідно, 33 і 50 %.

Лікувальне введення піддослідним щурам флокаліну, подібно до мексидолу та пірацетаму, виявляло позитивний ефект, який був помітним вже на 5-ту добу. Так, показник летальності щурів з ГПМК на фоні досліджуваних препаратів був нижчим, ніж у контролі, у 1,8 раза на тлі флокаліну і пірацетаму та в 2,3 раза на тлі мексидолу ($p < 0,05$). Середній бал за шкалою McGrow був нижчим, порівняно з контролем, однак ці відмінності не сягали статистично вірогідних значень (див. рис.). Кількість щурів, що втрималися на перекладині і в rotarod-test, на 5-ту добу експерименту при лікуванні флокаліном, мексидолом і пірацетамом становила, відповідно, 50, 57 та 50 % тварин із групи, що було вірогідно більшим відносно тварин із ГПМК без корекції. Позитивна динаміка зазначених показників неврологічного дефіциту при застосуванні флокаліну, як і референс-препаратів, зберігалась і на 15-ту добу експерименту. Кількість тварин із важким неврологічним дефіцитом зменшилася більш, як у 2 рази і порівняно з контролем, і відносно відповідного показника в групі на 5-ту добу експерименту. Відсоток тварин у групі, що втрималися на перекладині, був вірогідно більшим, ніж у контролі, і становив 67 % при застосуванні флокаліну і пірацетаму та 71 % на фоні мексидолу. На стрижні, що обертається, втрималося, відповідно, 83 % щурів на тлі флокаліну і пірацетаму та 86 % на тлі мексидолу ($p < 0,05$ відносно контролю). При

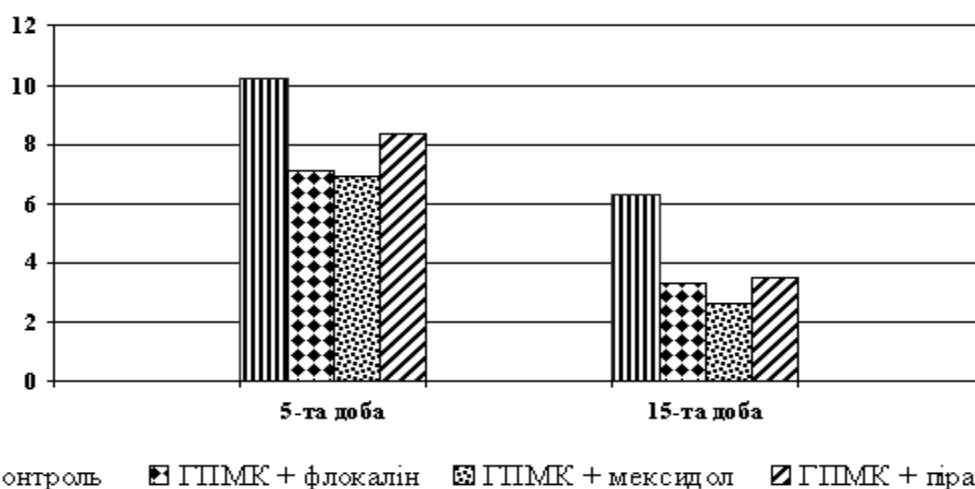


Рис. 1. вплив флокаліну, мексидолу та пірацетаму на летальність та вираженість неврологічного дефіциту у щурів з ГПМК - середній бал за шкалою С. Р. McGrow

Примітка: 1) По осі ординат - кількість балів за шкалою. 2) * - $p < 0,05$ відносно контрольної групи тварин;

цьому в обидва терміни спостереження флокалін за величиною лікувального ефекту співставлявся з референс-препаратами.

Аналогічну ситуацію спостерігали при дослідженні рухової та орієнтувально-дослідницької поведінки в умовах "відкритого поля" (табл.). На тлі курсового введення флокаліну, як мексидолу та пірацетаму мала місце більша рухова активність порівняно з контролем. Це було добре помітно на 15-ту добу експерименту: вірогідно зросла відносно щурів контрольної групи горизонтальна (відповідно на 50, 61 та 59 %) та вер-

тикальна (відповідно на 89, 63 та 76 %) активності; збільшилася кількість заглядань в отвори (відповідно на 131, 151 та 134 %). Проте не досягла рівня псевдооперованих тварин, у яких горизонтальна активність на 15-ту добу була більша відносно контролю на 101 %, вертикальна активність - на 182 % і кількість обстеження отворів - на 196 %.

Таким чином, двотижневе введення шурам із експериментальним ГПМК (двобічна оклюзія загальних сонних артерій) флокаліну (1,0 мг/кг, в/о), як і мексидолу (100,0 мг/кг, в/о) та пірацетаму

Таблиця

Вплив флокаліну, мексидолу та пірацетаму на орієнтовно-дослідницьку поведінку і рухову активність щурів з ГПМК в умовах їх 14-денного введення (M±m)

Група тварин	Горизонтальна активність		Вертикальна активність		Обстеження отворів	
	5-та доба	15-та доба	5-та доба	15-та доба	5-та доба	15-та доба
Псевдооперовані	11,5 ± 1,0*	16,5 ± 0,8*	5,7 ± 0,8*	10,7 ± 0,8*	5,3 ± 1,0*	9,5 ± 1,1*
ГПМК без лікування (контроль)	7,0 ± 0,8	8,2 ± 0,9	2,8 ± 0,5	3,8 ± 0,5	2,2 ± 0,4	3,2 ± 0,5
ГПМК + флокалін	8,8 ± 1,1	12,3 ± 1,3*	4,7 ± 0,6*	7,2 ± 0,5*	3,0 ± 0,4	7,4 ± 0,7*
ГПМК + мексидол	7,0 ± 0,7	13,2 ± 1,2*	5,2 ± 0,9*	6,2 ± 0,7*	3,3 ± 0,6	8,3 ± 0,7*
ГПМК + пірацетам	8,3 ± 1,4	13,0 ± 1,2*	5,0 ± 0,8*	6,7 ± 0,7*	2,8 ± 0,3	7,5 ± 0,9*

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно контрольної групи тварин;

(200,0 мг/кг, в/о) призводило до зниження вираженості неврологічного дефіциту, відновлення м'язової сили та координації рухів тварин, що проявлялося вірогідним зменшенням кількості тварин із важкою неврологічною симптоматикою. Одночасно на тлі позитивної динаміки клінічної картини, викликані дією флокаліну, як і препаратів порівняння, мало місце відновлення орієнтувально-дослідницької поведінки щурів: сумарна рухова активність у тесті "відкритого поля" під дією сполук збільшувалася майже в 2 рази порівняно з тваринами з ГПМК без лікування.

При цьому слід підкреслити, що на фоні нормалізації неврологічного статусу і поведінкових реакцій щурів з ГПМК (двобічна оклюзія загальних сонних артерій), флокалін, як і мексидол та пірацетам, вірогідно підвищували виживання тварин у групі, що виявилось у зменшенні летальності щурів із ГПМК порівняно з контролем.

Висновки

Таким чином, підсумовуючи результати дос-

лідження можна зазначити, що флокаліну притаманна захисна дія на ішемізований мозок, за величиною якої він практично співставляється з препаратами порівняння. Водночас, флокалін за ступенем зазначеного ефекту значно переважає мексидол та пірацетам в активності, оскільки викликав співставимий ефект у значно меншій дозі.

Перспективи подальших досліджень

Результати проведеного дослідження вказують на доцільність поглибленого вивчення фармакологічних властивостей флокаліну на предмет створення нового вітчизняного церебропротектора, конкурентоспроможного з мексидолом.

Література. 1. Буреш Ян. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон; пер. с англ. Е. Н. Живописцевой. - Москва : Высшая школа, 1991. - 527 с. 2. Гусев Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. - М. : Медицина, 2001. - 328 с. 3. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротекторных препаратов (методические рекомендации) / [И. С. Чекман, Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев и др.]. - Киев., 2010. - 81 с. 4. Зербіно Д. Д. Гострі порушення мозкового кровообігу у чоловіків віком до 50 років: етіологія та морфогенез / Д. Д. Зербіно, Н. З. Гринчишин, І. І. Цюк //

Укр. мед. часопис. 2008. № 1 (63). С. 83-87. 5. Крайнева Б. А. Особенности и механизм нейропротекторного действия препарата "Мексидол" при геморрагическом инсульте в эксперименте / Б. А. Крайнева // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 2006. - Приложение 1. - С. 40-44. 6. Лапач С. Н. Статистика в науке и бизнесе: Практическое руководство / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. - К. : Морион, 2002. - 640 с. 7. Мищенко Т. С. Когнитивные и аффективные нарушения у постинсультных больных и возможности их коррекции / Т. С. Мищенко, Л. Ф. Шестопалова, В. Н. Мищенко // Международный неврол. ж. - 2007. - № 2(12). - С. 26-30. 8. Сучасний стан проблеми діагностики, перебігу, лікування гострих порушень мозкового кровообігу в поліклінічних умовах (огляд літератури) / І. С. Зозуля, Г. І. Лисенко, І. О. Латоха [та ін.] // Укр. мед. часопис. - 2011. - № 6(86). - С. 30-39. 9. Alan A. Boulton. Animal Models of Neurological Disease / Alan A. Boulton, Glen B. Baker, Roger F. Butterworth. - Totowa, New Jersey : Humana Press, 1992. - 373 p.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФЛОКАЛИНА НА ВЫРАЖЕННОСТЬ НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО ДЕФИЦИТА У КРЫС В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВотоКА

О.Н. Денисюк

Резюме. В опытах на лабораторных крысах установлено, что N-(4-дифторометоксифенил)-N'-1,2,2-триметилпропил-N"-цианогуанидин (флокалин) в дозе 1,0 мг/кг, как и мексидол (100,0 мг/кг) и пирацетам (200,0 мг/кг), способен уменьшать неврологические расстройства, вызванные

острым нарушением мозгового кровотока (двухсторонняя окклюзия общих сонных артерий) По величине терапевтического эффекта в заданных условиях эксперимента флокалин сопоставлялся с препаратами сравнения.

Ключевые слова: острое нарушение мозгового кровотока, флокалин, мексидол, пирацетам, церебропротекторное действие.

STUDY OF FLOKALIN INFLUENCE ON EVIDENCE OF NEUROLOGICAL DEFICIT IN RATS UNDER CONDITIONS OF ACUTE STROKE

O.M. Denisyuk

Abstract. In experiments on laboratory rats it has been found that N-(4-difluoromethoxyphenyl)-N'-1,2,2-trimethylpropyl-N"-cyanoguanidine (flokalin) at 1.0 mg/kg as well as mexidol (100.0 mg/kg) and piracetam (200.0 mg/kg), reduced the neurological disorders caused by acute stroke (bilateral occlusion of the bilateral common carotid arteries) according to therapeutic effect flokalin was compared with reference drugs.

Key words: acute stroke, flokalin, mexidol, piracetam, cerebroprotective action.

Vinnitsa national Pirogov memorial medical university

Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol.14, №2 (52). - P.85-88.

Надійшла до редакції 26.04.2015

Рецензент - д.мед.н., доц. І.І. Кричун

© О.М. Денисюк, 2015