

## ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА АНТИОКСИДАНТНОЇ ТА АНТИГІПОКСАНТНОЇ ДІЇ ПІРАЦЕТАМУ І МЕМАНТИНУ ЗА УМОВ ЇХ ОКРЕМОГО І ПОЄДНАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ПРИ ГОСТРІЙ ГІПОКСІЇ

О.Г.Кметь, І.І.Заморський

Буковинська державна медична академія

На статевонезрілих самцях безпородних білих щурів було вивчено вплив пірацетаму і мемантину при їх окремому та поєднаному введенні на антиоксидантний та антигіпоксантичний захист головного мозку за умов гострої гіпобаричної гіпоксії. Встановлено, що гостра гіпоксія спричиняє достовірне зростання вмісту ТБК-активних продуктів на 44%, зниження активності каталази — на 55% і  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази — на 52% в порівнянні з контрольною групою тварин. Поєднане введення пірацетаму та мемантину перед гіпоксією більш інтенсивно знижує вміст ТБК-активних продуктів у 3,4 рази, підвищує активність каталази в 1,1 рази та  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази — в 1,5 рази, ніж окреме застосування цих препаратів.

В останні десятиліття увага широкого кола дослідників спрямована на вивчення детальних механізмів, які лежать в основі пошкоджень нейронів [15], викликаних гіпоксією, з метою підвищення їхньої толерантності до цього патологічного впливу та розробку нових антигіпоксичних препаратів.

Відомо [12], що при гіпоксії всередині клітини накопичується  $\text{Ca}^{2+}$ , який порушує її функціонування та призводить до загибелі [13]. У зв'язку з цим привертають увагу іонотропні рецептори, які відіграють ключову роль у здійсненні збуджуючої нейропередачі в центральній нервовій системі (ЦНС), важливу при запуску каскаду патохімічних реакцій при гострій гіпоксії [10]. Найбільш вивченими серед іонотропних рецепторів є рецептори NMDA-типу [9]. Перезбудження глутаматом саме цих рецепторів призводить до “шокового” відкриття кальцієвих каналів і сильного притоку іонів кальцію в нейрон, що викликає його загибель [11].

Для попередження загибелі клітин головного мозку пропонують [5] використовувати блокатори NMDA-глутаматних рецепторів, до яких належить мемантин. Водночас значну увагу дослідників при-

вертає вплив ноотропів, зокрема пірацетаму, на функції центральних глутаматергічних синапсів [1]. Відомо [1, 16], що у пірацетаму є здатність впливати на NMDA-рецептор шляхом зміни іонних потоків кальцію.

Тому метою нашого дослідження було порівняння антиоксидантної та антигіпоксантичної дії окремого та поєднаного застосування пірацетаму та мемантину за умов гострої гіпоксії.

### Матеріали та методи

Досліди проводили на статевонезрілих самцях [6] безпородних білих щурів масою 65-75 г. За тиждень до початку дослідів визначали чутливість щурів до гіпоксії [4] і в подальшому використовували лише середньостійких тварин.

Всіх тварин поділили на 8 груп: 1) контроль з введенням фізіологічного розчину; 2) щури, які піддавались дії гіпоксії з попереднім введенням фізіологічного розчину; 3) тварини, яким вводили пірацетам; 4) щури, які піддавались дії гіпоксії з попереднім введенням пірацетаму; 5) тварини, яким вводили мемантин; 6) щури, які піддавались дії гіпоксії з попереднім введенням мемантину; 7) тварини, яким вводили пірацетам і мемантин; 8) щури, які піддавались дії гіпоксії з попереднім введенням пірацетаму та мемантину. Пірацетам (“Дарниця”, Україна) та мемантин (“Акатинол-мемантин”, “Мерц”, Німеччина) вводили одноразово внутрішньоочеревинно у дозах відповідно 200 мг/кг [3] і 10 мг/кг [5]. Враховуючи фармакокінетику препаратів, пірацетам [3] вводили за одну годину, а мемантин [17] — за 4 год до моделювання гіпоксії.

Гостру гіпоксичну гіпобаричну гіпоксію моделювали за допомогою проточної барокамери шляхом розрідження повітря до величин, еквівалентних висоті 12000 м, зі швидкістю 50 м/с. На “висотному плато” щурів витримували до моменту другого агонального вдиху, після чого здійснювали “спуск” на попередню нульову висоту, відновлюючи нормальний атмосферний тиск і життєдіяльність тварин.

Показники антиоксидантної та антигіпоксантичної дії пірацетаму та мемантину у фронтальній корі та гіпокампі щурів за гострої гіпоксії ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

Групи тварин	Кора (фронтальна частина)			Гіпокамп		
	ТБК-активні продукти (мкмоль на г тканини)	Каталаза (мкмоль перокси-ду водню за хв на мг білка)	Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> -АТФаза (мкмольР <sub>i</sub> за хв на мг білка)	ТБК-активні продукти (мкмоль на г тканини)	Каталаза (мкмоль перокси-ду водню за хв на мг білка)	Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> -АТФаза (мкмольР <sub>i</sub> за хв на мг білка)
Контроль	8,55±0,59	1,10±0,06	0,38±0,02	2,04±0,12	1,32±0,06	0,62±0,03
Гіпоксія	19,03±0,76*	0,25±0,02*	0,19±0,01*	3,85±0,14*	0,75±0,03*	0,36±0,02*
Пірацетам	9,00±0,35	0,71±0,04*	0,24±0,02	2,78±0,13*	1,51±0,04*	0,49±0,01*
Пірацетам + гіпоксія	7,92±0,36**	0,66±0,03***	0,31±0,02***	1,20±0,09***	1,54±0,03***	0,48±0,02***
Мемантин	12,13±0,66*	0,68±0,01*	0,29±0,02*	2,99±0,12*	1,50±0,03*	0,31±0,02*
Мемантин + гіпоксія	9,68±0,38**	0,52±0,02***	0,48±0,02***	1,38±0,12***	1,23±0,02**	0,55±0,02**
Мемантин + пірацетам	12,34±0,55*	0,66±0,03*	0,24±0,02	2,14±0,15	1,16±0,03*	0,47±0,03*
Мемантин + пірацетам + гіпоксія	4,78±0,32 *,**,***,****	1,04±0,04 *,**,***,****	0,61±0,01 *,**,***,****	0,55±0,08 *,**,***,****	1,76±0,03 *,**,***,****	0,87±0,08 *,**,***,****

Примітки:

\* — показники вірогідно відрізняються від показників контрольної групи ( $p < 0,05$ );

\*\* — показники вірогідно відрізняються від показників тварин, які знаходились за гіпоксії без попереднього введення препаратів ( $p < 0,05$ );

\*\*\* — показники вірогідно відрізняються від показників тварин, які знаходились за гіпоксії з попереднім окремим введенням пірацетаму ( $p < 0,05$ );

\*\*\*\* — вірогідно відрізняються від показників тварин, які знаходились за гіпоксії з попереднім окремим введенням мемантину ( $p < 0,05$ ).

Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів (ТБКАП), які визначали в реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою [2], розраховуючи кількість ТБКАП в мкмоль на г тканини. Стан антиоксидантного захисту (АОС) мозку оцінювали за активністю основного ферменту — каталази [КФ 1.11.1.6] [7]. Антигіпоксантичну дію препаратів оцінювали за активністю Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФази [КФ 3.6.1.3] [14], яка є ключовим ферментом нейронів і характеризує стан енергетичного обміну клітини. Активність каталази виражали в мкмоль пероксиду водню, що розклався за хв на мг білка, а Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФази — в нмоль Р<sub>i</sub>, що утворився за хв на мг білка. Математичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики з використанням t-критерію Стюдента.

#### Результати та їх обговорення

Дані, наведені в табл. 1 і 2, свідчать про значну активацію процесів ПОЛ (підвищення вмісту ТБКАП) після дії гострої гіпоксії у всіх досліджуваних структурах головного мозку тварин. Так, у корі вміст ТБКАП збільшувався на 55% ( $p < 0,001$ ); в гіпокампі — на 47% ( $p < 0,001$ ); у хвостатому ядрі — на 39% ( $p < 0,001$ ); у блідій кулі — на 35% ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з контрольною групою. Одночасно значно пригнічувався стан антиокси-

дантного та антигіпоксантичного захисту нейронів, який представлений каталазою та Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФазою. Показники активності каталази та Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФази у корі, гіпокампі, хвостатому ядрі, блідій кулі рееструвались, у середньому, достовірно нижчими відповідно на 55% ( $p < 0,05$ ) та 52% у порівнянні з контролем. Таке зростання вмісту продуктів ПОЛ та пригнічення активності АОС можна пов'язати з безпосереднім впливом гіпоксії на головний мозок тварин [8].

Після введення пірацетаму перед дією гіпоксії спостерігалось достовірне зниження вмісту ТБКАП у корі у 2,4 рази ( $p < 0,001$ ); гіпокампі — у 3,2 рази ( $p < 0,001$ ); блідій кулі — у 3,0 рази ( $p < 0,001$ ); е хвостатому ядрі — у 2,6 рази ( $p < 0,001$ ) в порівнянні з групою тварин, які піддавались дії гіпоксії без введення препарату. При цьому активність каталази та Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФази вірогідно зростала у всіх досліджуваних структурах в середньому відповідно в 2,4 рази ( $p < 0,05$ ) та 1,8 рази ( $p < 0,05$ ). Такі результати можуть свідчити про нормалізуючий вплив пірацетаму на прооксидантно-антиоксидантний баланс та покращення антигіпоксантичного захисту структур головного мозку при гіпоксії.

Введення мемантину перед дією гіпоксії приводило до зниження показників вмісту ТБКАП в середньому у 2,4 рази ( $p < 0,001$ ) в порівнянні з

Показники антиоксидантної та антигіпоксантичної дії пірацетаму та мемантину у блідій кулі та хвостатому ядрі щурів за гострої гіпоксії ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

Групи тварин	Бліда куля			Хвостате ядро		
	ТБК-активні продукти (мкмоль на г тканини)	Каталаза (мкмоль перокси-ду водню за хв на мг білка)	Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> -АТФаза (мкмольРі за хв на мг білка)	ТБК-активні продукти (мкмоль на г тканини)	Каталаза (мкмоль перокси-ду водню за хв на мг білка)	Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> -АТФаза (мкмольРі за хв на мг білка)
Контроль	3,47±0,11	0,77±0,05	1,16±0,02	3,18±0,12	1,55±0,03	1,62±0,03
Гіпоксія	5,36±0,12*	0,27±0,02*	0,32±0,02*	5,20±0,10*	1,02±0,04*	0,89±0,03*
Пірацетам	2,71±0,15*	0,78±0,05	0,56±0,02*	3,21±0,98	2,01±0,04*	0,84±0,36*
Пірацетам + гіпоксія	1,81±0,14***	0,85±0,02**	0,81±0,02***	2,00±0,04***	1,54±0,03**	1,28±0,03***
Мемантин	3,18±0,14*	1,04±0,04*	0,55±0,02*	3,89±0,07*	2,11±0,06*	1,15±0,05*
Мемантин + гіпоксія	1,93±0,10***	0,77±0,04**	0,76±0,03***	2,49±0,13***	1,84±0,02***	1,34±0,04***
Мемантин + пірацетам	2,57±0,17*	0,45±0,02*	0,65±0,03*	3,26±0,12	1,57±0,04	1,16±0,04*
Мемантин + пірацетам + гіпоксія	0,96±0,05 *,**,***,****	1,18±0,03 *,**,***,****	1,02±0,03 *,**,***,****	0,97±0,04 *,**,***,****	2,15±0,15 *,**,***,****	1,78±0,04 *,**,***,****

Примітки:

\* — показники вірогідно відрізняються від показників контрольної групи ( $p < 0,05$ );

\*\* — показники вірогідно відрізняються від показників тварин, які знаходились за гіпоксії без попереднього введення препаратів ( $p < 0,05$ );

\*\*\* — показники вірогідно відрізняються від показників тварин, які знаходились за гіпоксії з попереднім окремим введенням пірацетаму ( $p < 0,05$ );

\*\*\*\* — вірогідно відрізняються від показників тварин, які знаходились за гіпоксії з попереднім окремим введенням мемантину ( $p < 0,05$ ).

тваринами, яким перед гіпоксією вводили фізіологічний розчин. Водночас активність каталази зростала в корі у 2,6 рази ( $p < 0,001$ ); гіпокампі — у 1,6 рази ( $p < 0,001$ ); хвостатому ядрі — у 1,8 рази ( $p < 0,001$ ); блідій кулі — у 2,9 рази ( $p < 0,001$ ) в порівнянні з групою, яка знаходилась при гіпоксії без введення мемантину. Активність Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФази у тварин, яким перед гіпоксією вводили мемантин, зростала у всіх досліджуваних структурах в середньому в 2 рази ( $p < 0,001$ ) в порівнянні з групою тварин, які знаходились при гіпоксії без введення мемантину.

У групі тварин, яким перед гіпоксією вводили одночасно пірацетам і мемантин, вміст ТБКАП достовірно знижувався в середньому у 5,5 рази ( $p < 0,001$ ) в порівнянні з тваринами, яким перед гіпоксією вводили фізіологічний розчин. Проте даний показник знижувався лише у 2,1 рази ( $p < 0,001$ ) при окремому введенні препаратів. Одночасно активність каталази достовірно зростала у всіх досліджуваних структурах при поєднаному введенні препаратів перед гіпоксією у 3,3 рази ( $p < 0,001$ ), а при окремому введенні у — 2,2 рази ( $p < 0,001$ ) в порівнянні з тваринами, яким перед гіпоксією вводили фізіологічний розчин. При порівнянні активності Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФази після поєданого і окремого введення пірацетаму та меман-

тину спостерігали її зростання в середньому у 1,5 рази ( $p < 0,001$ ).

Таким чином, одержані нами результати підтверджують дані про те, що гостра гіпоксична гіпоксія спричиняє зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в організмі у бік посилення процесів вільнорадикального окиснення [8]. Поєдане введення пірацетаму та мемантину перед гіпоксією більш ефективно нормалізує таку рівновагу, підвищуючи стійкість нейронів до недостатності кисню, ніж окреме введення препаратів.

#### ВИСНОВКИ

1. Гостра гіпоксія спричиняє достовірне зростання вмісту ТБК-активних продуктів, зниження активності каталази і Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФази у корі, гіпокампі, блідій кулі, хвостатому ядрі головного мозку лабораторних щурів.

2. Поєдане введення пірацетаму та мемантину перед гіпоксією більш інтенсивно знижує вміст ТБК-активних продуктів, підвищує активність каталази та Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФази, ніж окреме застосування цих препаратів.

3. Поєдане введення пірацетаму та мемантину більш ефективно, ніж окреме введення цих препаратів за антиоксидантними та антигіпоксантичними властивостями.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Аведисова А.С., Ахапкин Р.В., Ахапкина В.И., Вериго Н.Н. // *Рос. психиатр. журн.* — 2001. — №1. — С. 46-54.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. *Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.* — М.: Наука, 1972. — 252 с.
3. Воронина Т.А., Молодавкин Г.М., Борликова Г.Г. и др. // *Эксперим. и клин. фармакол.* — 2000. — Т. 63, №2. — С. 9-11.
4. *Гипоксия и индивидуальные особенности реактивности* / В.А.Березовский, К.А.Бойко, К.С.Клименко и др. Под общ. ред. В.А.Березовского. — К.: Наукова думка, 1978. — 216 с.
5. Гмиро В.Е., Сердюк С.Е. // *Эксперим. и клин. фармакол.* — 2000. — Т. 63, №1. — С. 7-13.
6. Заморський І.І., Кметь О.Г. // *Тези доп. наук. конф. "Вікові аспекти чутливості організму до ксенобіотиків"*. — Чернівці: Медик, 2002. — С. 6.
7. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. // *Лаб. дело.* — 1988. — №1. — С. 16-19.
8. Лукьянова Л.Д. // *Бюл. экпер. биол. и мед.* — 1997. — Т. 124, №9. — С. 244-253.
9. Caciagli F., Di Iorio P., Ciccarelli R. et al. // *Pharm. Res.* — 1995. — Vol. 31, Suppl. — P. 167.
10. Dalkara T., Ayata C., Demirci M. et al. // *Stroke.* — 1996. — Vol. 27, №1. — P. 127-133.
11. Kawabata S., Kohara A., Tsutsumi R. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1998. — Vol. 273, №28. — P. 17381-177385.
12. Maruyama J. // *J. Physiol.* — 1993. — Vol. 463. — P. 729-746.
13. Oe H., Kuzuya T., Hoshida S. et al. // *J. Molec. Cell. Cardiol.* — 1992. — Vol. 32, Suppl. I. — P. 206.
14. Robinson J.D. // *Arch. Biochem. and Biophys.* — 1970. — Vol. 139, №1. — P. 17-27.
15. Roy P., Sajan M., Kulkarni A. // *J. Biochem. Toxicol.* — 1995. — Vol. 10, №2. — P. 111-120.
16. Solntseva E.I., Bukanova J.V., Ostrovskaya R.U. et al. // *Gen. Pharmacol.* — 1997. — №1. — P. 85-89.
17. Spanagei R., Eilbacher B., Wilke R. // *Eur. J. Pharm.* — 1994. — Vol. 262. — P. 21-26.

УДК 615.225:616.821:612.273.2

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОГО И АНТИГИПОКСАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ ПИРАЦЕТАМА И МЕМАНТИНА В УСЛОВИЯХ ИХ ОТДЕЛЬНОГО И СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ  
О.Г.Кметь, И.И.Заморский

На неполовозрелых самцах беспородных белых крыс было изучено влияние пирацетама и мемантина при их раздельном и совместном применении на антиоксидантную и антигипоксантную защиту головного мозга в условиях острой гипобарической гипоксии. Установлено, что острая гипоксия оказывает содействие достоверному возрастанию содержимого ТБК-активных продуктов на 44%, снижению активности каталазы на 55% и  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы — на 52% в сравнении с контрольной группой животных. Совместное введение пирацетама и мемантина перед гипоксией более эффективно снижает содержимое ТБК-активных продуктов в 3,4 раза, повышает активность каталазы в 1,1 раза и  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы — в 1,5 раза, чем отдельное применение данных препаратов.

UDC 615.225:616.821:612.273.2

A COMPARATIVE EVALUATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIHYPOXANT EFFECT OF PYRACETAM AND MEMANTIN IN THE CONDITIONS OF SEPRATE AND COMBINED ADMINISTRATION IN ACUTE HYPOXIA  
O.G.Kmet, I.I.Zamorskiy

Pyracetam and memantin effect on antioxidant and antihypoxant protection of the brain with their separate and combined administration has been studied in preadolescent male mongrel white rats in the conditions of acute hypobaric hypoxia. It has been established that acute hypoxia contributes to the authentic increase of the content of thiobarbiturate-acid (TBA)-active products in 44%, the decrease of catalase activity in 55% and  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATphase activity in 52% comparing with the control group of the animals. A combined administration of pyracetam and memantin before hypoxia decreases more significantly the content of TBA-active products in 3.4 times, increases the catalase activity in 1.1 times and  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATase activity in 1.5 times than their separate usage.