

ВПЛИВ МЕМАНТИНУ НА СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ РІВНОВАГИ У СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ГОСТРІЙ ГІПОКСІЇ

Буковинська державна медична академія, Чернівці

Вступ

Гіпоксія — поширений патологічний стан, який виникає як за умов дефіциту кисню у зовнішньому середовищі, так і внаслідок різноманітних патологій, пов'язаних, зокрема, з порушенням функцій дихаль-

ної та серцево-судинної систем, транспортної функції крові. В усіх випадках у остаточному підсумку відбувається зниження доставки кисню до тканин до рівня, недостатнього для підтримки функцій, метаболізму і структури клітин. Це визначає актуальність проблеми та її

важливість для практичної та теоретичної медицини [1].

Загальновідомо, що виникнення окисного стресу внаслідок зміщення окисно-відновної рівноваги у бік збільшеної продукції вільних радикалів є провідним патогенетичним механізмом руйнування клітинних

мембран і загибелі клітин при різноманітних патологічних станах. Враховуючи важливу роль порушень прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в нейронній смерті при гіпоксії, все більша увага приділяється застосуванню антиоксидантів для запобігання або зменшення проявів ушкодження нервових клітин при гіпоксії. За даними літератури [2], припускають, що лікарським засобом адамантильної структури, до яких належить мемантин, властива протиішемічна та антигіпоксична дії. Їх позитивний ефект при гіпоксичо-ішемічних ушкодженнях нейронів пов'язують зі здатністю зменшувати дисбаланс між дофаміноюю і глутаматом нейромедіаторними системами в неостріатумі та пригнічувати ексайтотоксичність збуджувальних амінокислот.

Метою нашого дослідження було вивчення впливу мемантину на стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у різних структурах головного мозку (гіпокамп, хвостате ядро, фронтальна кора та бліда куля) при гострій гіпоксії. Дослідження проводились у цих структурах, оскільки саме в них виявлено найбільшу кількість глутаматергічних синапсів, через які здійснює свою дію мемантин [3].

Матеріали та методи дослідження

Експерименти проведено на 28 статевонезрілих самцях безпородних білих щурів віком 5–6 тиж, масою 65–75 г, оскільки у статевонезрілих тварин незрілий мозок чутливіший до дії окисного стресу при гострій гіпоксії [4].

За тиждень до початку дослідження визначали чутливість щурів до гіпоксії і в подальшому використовували лише помірно стійких тварин. Усіх щурів поділили на 4 групи: 1) контроль — з введенням фізіологічного розчину; 2) щури, яких піддавали дії гіпоксії з попереднім введенням

фізіологічного розчину; 3) тварини, яким вводили мемантин; 4) щури, яких піддавали дії гіпоксії з попереднім введенням мемантину. Мемантин («Акатинол-мемантин», «Мерц», Німеччина) вводили одноразово внутрішньочеревинно дозою 10 мг/кг [5] за 4 год до моделювання гіпоксії, враховуючи фармакокінетику препарату [6].

Гостру гіпоксичну гіпобаричну гіпоксію моделювали за допомогою проточної барокамери шляхом розрідження повітря до показників, еквівалентних висоті 12 000 м, зі швидкістю 50 м/с. На «висотному плато» щурів утримували до моменту другого агонального вдику, після чого здійснювали «спуск» на попередню нульову висоту, відновлюючи нормальний атмосферний тиск і життєдіяльність тварин. Евтаназію щурів виконували шляхом декапітації через 30 хв після припинення дії гострої гіпоксії та швидко вилучали мозок, який зберігали в рідкому азоті до проведення подальших досліджень. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і стан антиоксидантної системи (АОС) досліджували в гомогенаті, виготовленому з наважок тканин фронтальної кори, блідої кулі, хвостатого ядра, гіпокампа, які виділяли на зрізах переднього мозку згідно з стереотаксичним атласом мозку статевонезрілих щурів [7].

Інтенсивність ПОЛ оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА), який визначали в реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою [8], розраховуючи кількість МДА в мікромолях на грам тканини. Стан АОС мозку оцінювали за активністю основних ферментів — каталази [КФ 1.11.1.6] [9] і глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9] [10]. Активність каталази виражали в мікромолях пероксиду водню, що розклався за 1 хв на 1 мг білка, а глутатіонпероксидази — в мілімолях окиснено-

го глутатіону за 1 хв на 1 мг білка. Вміст білка визначали за методом Лоурі — Фоліна. Математичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Дані, наведені в табл. 1 і 2, свідчать про значну активацію процесів ПОЛ (підвищення вмісту МДА) після дії гострої гіпоксії в усіх досліджуваних структурах головного мозку тварин. Так, у гіпокампі вміст МДА збільшувався на 21 % ($P < 0,001$); у хвостатому ядрі — на 53 % ($P < 0,001$); у корі — на 34 % ($P < 0,001$); у блідій кулі — на 45 % ($P < 0,001$) порівняно з контрольною групою. Одночасно значно пригнічувався стан антиоксидантного захисту нейронів, представлений каталазою та глутатіонпероксидазою. Показники активності антиоксидантних ферментів у гіпокампі, хвостатому ядрі, блідій кулі рееструвалися, головним чином, вірогідно нижчими ($P < 0,05$) порівняно з контролем. Таке зростання вмісту продуктів ПОЛ і пригнічення активності АОС можна пов'язати з безпосереднім впливом гіпоксії на головний мозок тварин [1].

Після введення мемантину нормоксичним тваринам спостерігалось зниження вмісту МДА у блідій кулі. При цьому активність глутатіонпероксидази у фронтальній корі зростала, а в інших досліджуваних структурах знижувалася разом з активністю каталази на фоні збереження вмісту вторинного продукту ПОЛ (МДА) на рівні показників у контрольних тварин. Такі результати можуть свідчити про нормалізуючий вплив мемантину на прооксидантно-антиоксидантний баланс у структурах головного мозку нормоксичних тварин.

Введення мемантину перед дією гіпоксії призводило до

Показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у фронтальній корі та гіпокампі щурів при гострій гіпоксії та введенні мемантину, $M \pm m$, $n=7$

Групи тварин	Кора (фронтальна частина)			Гіпокамп		
	МДА, мкмоль/г тканини	Каталаза, мкмоль/хв/мг білка	ГП, ммоль/хв/мг білка	МДА, мкмоль/г тканини	Каталаза, мкмоль/хв/мг білка	ГП, ммоль/хв/мг білка
Контроль	3,930±0,601	2,550±0,450	1,770±0,371	3,360±0,580	4,790±0,403	0,490±0,095
Гіпоксія	5,290±0,867*	1,130±0,130*	0,720±0,120*	4,090±1,111	3,350±0,274*	0,630±0,055
Мемантин	4,020±0,320	2,270±0,411	2,210±0,198*	3,210±1,019	2,490±0,157*	0,300±0,030*
Мемантин + гіпоксія	3,730±0,612**	1,470±0,332**	1,600±0,286**	2,370±0,570**	1,380±0,365**	0,290±0,063**

Примітка. У табл 1 і 2: * — відмінності вірогідно відрізняються від показників контролю ($P < 0,05$); ** — зміни вірогідно відрізняються від показників у тварин, які знаходилися у гіпоксії без попереднього введення мемантину ($P < 0,05$); МДА — малоновий діальдегід; ГП — глутатіонпероксидаза.

Показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в структурах стріопалідарної системи головного мозку (хвостате ядро, бліда куля) щурів при гострій гіпоксії та введенні мемантину, $M \pm m$, $n=7$

Групи тварин	Хвостате ядро			Бліда куля		
	МДА, мкмоль/г тканини	Каталаза, мкмоль/хв/мг білка	ГП, ммоль/хв/мг білка	МДА, мкмоль/г тканини	Каталаза, мкмоль/хв/мг білка	ГП, ммоль/хв/мг білка
Контроль	3,050±0,210	4,160±0,305	6,630±1,375	2,060±0,289	2,770±0,431	4,120±0,714
Гіпоксія	4,690±0,852*	3,340±0,297*	2,010±0,470*	3,000±0,520*	1,680±0,237*	2,320±0,307*
Мемантин	3,050±0,521	2,360±0,305*	2,600±0,304*	1,470±0,150*	1,570±0,298*	2,670±0,435*
Мемантин + гіпоксія	3,470±0,423**	1,480±0,197**	1,570±0,164**	1,560±0,333**	0,700±0,120**	1,370±0,431**

зниження показників вмісту МДА: у гіпокампі — в 1,7 разу ($P < 0,001$); у хвостатому ядрі — в 1,4 разу ($P < 0,001$); у корі — в 1,5 разу ($P < 0,001$); у блідій кулі — в 1,9 разу ($P < 0,001$) порівняно з тваринами, яким перед гіпоксією вводили фізіологічний розчин замість мемантину. Водночас активність каталази в гіпокампі знижувалась у 2,4 разу ($P < 0,001$); у хвостатому ядрі — в 2,3 разу ($P < 0,001$); у блідій кулі — у 2,4 разу ($P < 0,001$); а в корі, навпаки, спостерігалось зростання порівняно з групою, яка знаходилась при гіпоксії без введення мемантину. Активність глутатіонпероксидази у тварин, яким перед гіпоксією вводили мемантин, зменшувалась в гіпокампі на 54 % ($P < 0,001$); у хвостатому ядрі — на 22 % ($P < 0,05$); у блідій кулі — на 41 % ($P < 0,001$) порівняно з групою

тварин, які знаходилися при гіпоксії без введення мемантину. Водночас у корі великих півкуль головного мозку активність глутатіонпероксидази підвищувалась на 55 % ($P < 0,001$).

Отже, попереднє введення мемантину запобігало посиленню ПОЛ при дії гострої гіпоксії в усіх досліджуваних структурах головного мозку щурів і водночас нормалізувало активність глутатіонпероксидази та підвищувало активність каталази у фронтальній ділянці кори великих півкуль. Такий вплив мемантину можна пояснити його антиглутаматною дією [5], оскільки глутамат є нейромедіатором збудження і сприяє активації ПОЛ [2]. Водночас активність антиоксидантних ферментів в інших структурах головного мозку (гіпокамп, хвостате ядро і бліда куля)

після застосування мемантину знижувалась на фоні зменшення вмісту МДА. При цьому в гіпокампі і блідій кулі вміст МДА реєструвався на рівнях нижчих, ніж у контрольних тварин. Показники низької активності ферментів АОС у гіпокампі та структурах стріопалідарної системи після введення мемантину можна пояснити одночасно порівняно нижчою інтенсивністю ПОЛ і відповідним збереженням загальної прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в нейронах.

Таким чином, одержані нами результати підтверджують дані про те, що гостра гіпоксична гіпоксія спричинює зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в організмі у бік посилення процесів вільнорадикального окислення [1], а попереднє введення мемантину нормалізує цю рівновагу,

підвищуючи стійкість нейронів, особливо кори, до недостатності кисню.

Висновки

Введення мемантину перед гострою гіпоксією запобігає активації ПОЛ і нормалізує стан антиоксидантної рівноваги в окремих структурах головного мозку лабораторних щурів, особливо у фронтальній корі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Лукьянова Л. Д. Биознергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции // Бюл. exper. биол. и мед. — 1997. — Т. 124, № 9. — С. 244-253.

2. Вовлечение глутаматных рецепторов (NMDA-типа) в реакции

нейронов мозга на аноксию различной длительности / М. О. Самойлов, А. А. Мокрушин, Д. Г. Семенов и др. // Там же. — 1998. — Т. 125, № 1. — С. 503-505.

3. Мошарова И. В. Типы глутаматных рецепторов и их роль в осуществлении синаптической передачи // Нейрохимия. — 2001. — Т. 18, № 1. — С. 3-18.

4. Загорський І. І., Кметь О. Г. Модель виявлення вікової чутливості до дії ксенобіотиків за ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку // Тези доп. наук. конф. «Вікові аспекти чутливості організму до ксенобіотиків». — Чернівці: Медик, 2002. — С. 6.

5. Гмиро В. Е., Сердюк С. Е. Поиск избирательных блокаторов NMDA и AMPA/каинатных рецепторов в ряду бис-амониевых соединений с адамантильными радикалами // Эксперим. и клин. фармакология. — 2000. — Т. 63, № 1. — С. 7-13.

6. Spanagei R., Eilbacher B., Wilke R. Memantine-induced dopamine release in the prefrontal cortex and striatum of the rat — a pharmacokinetic microdialysis study // Eur. J. of Pharm. — 1994. — Vol. 262. — P. 21-26.

7. Sherwood N., Timiras P. Astereotaxic atlas of the developing rat brain. — Los Angeles; London: University of California press; Berkeley, 1970. — 204 p.

8. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. — М.: Наука, 1972. — 252 с.

9. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16-19.

10. Геруш І. В., Мецишен І. Ф. Стан глутатінової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настойки ехінацеї пурпурової // Вісник проблем біол. та мед. — 1998. — № 7. — С. 10-15.