



УДК 616.831-001-099-031.25-085.225/.276-092.4+612.017.1

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КОРВИТИНА И ЛИПОФЛАВОНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА И ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

**С.А. ЖИЛЯЕВ**  
**С.Ю. ШТРЫГОЛЬ**

*Национальный  
фармацевтический  
университет,  
г. Харьков, Украина*

*e-mail: stanislav\_zhilya@mail.ru*

В опытах на крысах с моделью тяжелой черепно-мозговой травмы исследованы активность ферментов антиоксидантной системы (супероксиддисмутазы и каталазы), содержание продуктов перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты и ТБК-реактанты) в головном мозге, а также молекул средней массы, определяемых при длинах волны 238 нм, 254 нм, 260 нм и 280 нм в крови, под влиянием препаратов кверцетина: корвитина (водорастворимая форма) и липофлавона (липосомальная форма). Установлено, что корвитин в дозе 150 мг/кг и липофлавон в дозе 555 мг/кг снижают уровень диеновых конъюгатов, максимально стимулируют супероксиддисмутазу, но снижают активность каталазы. Липофлавон к тому же уменьшает эндотоксикоз.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, корвитин, липофлавон, кверцетин, перекисное окисление липидов, эндогенный токсикоз.

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) продолжает оставаться основной причиной смертности (до 60% травмированных) и инвалидизации населения (до 25% выживших больных) в возрастной категории 20-40 лет [19]. Только в 7% случаев результат лечения может быть оценен как выздоровление [14]. Это обусловлено биохимическими и физиологическими особенностями головного мозга: высокое содержание липидов, легко подвергающихся перекисному окислению в условиях гипоксии, значительное энергопотребление и повышенная чувствительность к гипоксии, низкая по сравнению с другими органами активность антиоксидантной системы и ее быстрая истощаемость [9]. Несмотря на углубленное изучение патогенеза ЧМТ и внедрение в лечебную практику новых препаратов, неудовлетворительные результаты лечения обуславливают актуальность поиска новых препаратов, обладающих политропными эффектами. К их числу принадлежит кверцетин. Этот флавоноид имеет широкий спектр фармакологического действия: кардиотоническое, противоопухолевое, гиполипидемическое, антиоксидантное, противовоспалительное, противомикробное, гипогликемическое. Указанные эффекты обусловлены влиянием кверцетина на ряд ферментных систем и на гормональный фон организма [1, 18, 20].

В Украине созданы оригинальные инъекционные препараты кверцетина: водорастворимый корвитин (в 1 флаконе 0,05 г кверцетина, 0,45 г повидона и вспомогательное вещество натрия гидрохлорид) и липосомальный липофлавон (в 1 флаконе 15 мг кверцетина, 550 мг лецитина (фосфатидилхолин) и вспомогательное вещество лактоза). Эти препараты используются в лечении ишемических повреждений миокарда и головного мозга [1, 2, 3]. В экспериментальных исследованиях доказана эффективность корвитина и липофлавона при почечной недостаточности, церебральной ишемии и ЧМТ легкой степени [5, 15, 16]. Наличие двух лекарственных форм могут расширить сферу их дифференцированного применения и эффективность лечения. Показан выраженный терапевтический эффект этих препаратов при ЧМТ тяжелой степени, а именно значительное снижение летальности и уменьшение неврологического дефицита [7]. Однако остаются не вполне ясными биохимические механизмы этих эффектов.

**Цель исследования.** Выяснить дозозависимое влияние корвитина и липофлавона в условиях экспериментальной тяжелой ЧМТ на активность ферментов антиоксидантной системы – супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы, содержание в головном мозге промежуточных и конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгатов (ДК) и ТБК-реактантов, а также на содержание эндотоксинов – молекул средней массы (МСМ), определяемых при различных длинах волн.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на 70 самцах белых крыс массой 180-220 гр. Препараты вводили внутривентриально за 30 мин до моделирования ЧМТ тяжелой степени. Группа №1 – интактные крысы, которых для нивелирования условий эксперимента подвергали только действию эфирного наркоза, №2 – группа модельной патологии (МП). Крысам группы №3 вводили пирасетам в дозе 200 мг/кг (референс-препарат ЗАО «Фармацевтическая фирма «Дарница», г.Киев, Украина), животным групп №4 и №5 вводили корвитин (ЗАО



НПЦ „Борщаговский ХФЗ”, г. Киев, Украина) и липофлавон (ЗАО «Биолек», г. Харьков, Украина) в дозах 100 мг/кг и 370 мг/кг соответственно (эквивалентно 10 мг/кг по кверцетину). Крысам группы №6 вводили корвитин в дозе 150 мг/кг, а №7 – липофлавон в дозе 555 мг/кг (эквивалентно 15 мг/кг по кверцетину). ЧМТ моделировали под легким эфирным наркозом путем дозированного удара по теменно-затылочной области свода черепа грузом массой 0,0067 кг с энергией 0,425 Дж [6]. Через сутки после травмы под тиопенталовым наркозом у животных забирали кровь из яремной вены, затем декапитировали и немедленно извлекали головной мозг. В гомогенате головного мозга определяли содержание ДК и ТБК-реактантов [17], активность СОД [11] и каталазы [12]. В крови определяли содержание МСМ спектрофотометрически при длинах волн 238 нм, 254 нм, 260 нм, 280 нм [8]. Использовали спектрофотометр Spеcord 200. Полученные данные обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** В табл.1 представлены данные, отражающие изменение содержания ДК и ТБК-реактантов в мозге животных с ЧМТ. В группе МП отмечался наибольший прирост ДК – промежуточных продуктов ПОЛ. Повышение показателя составило 186,2% относительно группы интактного контроля (p<0,001), что свидетельствует об интенсификации процессов ПОЛ и соответствует данным литературы [6]. В группе пирacetама отмечался рост ДК на 68,9% по сравнению с показателем интактных животных (p<0,001). Следует отметить, что во всех группах, получавших препараты кверцетина, содержание ДК в головном мозге было достоверно ниже, чем в группах МП и пирacetама. А в группе корвитина (150 мг/кг) уровень ДК был еще ниже, чем в интактном контроле. Повышение содержания ТБК-реактантов отмечалось во всех группах крыс с ЧМТ, причем на фоне экспериментальной терапии (пирacetам и оба препарата кверцетина) уровень ТБК-реактантов превышал таковой в группе МП. Зафиксированы и различия между влиянием отдельных препаратов кверцетина на концентрацию конечных продуктов ПОЛ. Их содержание в обеих группах липофлавона несколько выше, чем в группах корвитина, эквивалентных по дозам кверцетина. Возможно, это связано с тем, что фосфатидилхолин, поступающий в головной мозг, в котором после травмы имеют место вторичные гипоксические повреждения, выступает в качестве «ловушки» свободных радикалов, отвлекая их на себя.

Таблица 1

**Содержание диеновых конъюгатов и ТБК-реактантов в головном мозге крыс под влиянием пирacetама, корвитина и липофлавона при тяжелой экспериментальной черепно-мозговой травме**

Показатель	Интактные животные (n = 10)	Черепно-мозговая травма					
		Модельная патология (n = 10)	Пирacetам, 200 мг/кг (n = 10)	Корвитин, 100 мг/кг (n = 10)	Липофлавон, 370 мг/кг (n = 10)	Корвитин, 150 мг/кг (n = 10)	Липофлавон, 555 мг/кг (n = 10)
Диеновые конъюгаты, нмоль/г ткани	40,6 ± 3,08	116,2 ± 6,47@	68,6 ± 5,35@#	43,9 ± 3,92#*	37,1 ± 3,79#*	31,9 ± 2,13@ #*&	37,2 ± 1,93#*
ТБК-реактанты, нмоль/г ткани	9,9 ± 1,05	15,7 ± 1,95 @	20,8 ± 2,09@	32,1 ± 1,17@#*	38,6 ± 3,01@#*	19,2 ± 1,45@&	21,7 ± 1,45@#&

Примечания: n – количество животных в группах; достоверные отличия (p<0,05): @ – с группой интактного контроля, # – с группой модельной патологии, \* – с группой пирacetама, & – с показателем на фоне того же препарата в меньшей дозе кверцетина.

Примечательно, что с увеличением дозы обоих препаратов содержание ТБК-реактантов в головном мозге достоверно снижается, что может быть связано с антиоксидантными свойствами кверцетина [4].

Данные, представленные в табл. 2, позволяют оценить влияние как самой ЧМТ, так и исследуемых препаратов на активность ферментов антиоксидантной защиты в этих условиях.



Таблица 2

**Активность супероксиддисмутазы и каталазы в головном мозге крыс  
под влиянием парацетама, корвитина и липофлавона  
в условиях тяжелой экспериментальной черепно-мозговой травмы**

Показатель	Интакт- ные жи- вот-ные (n = 10)	Черепно-мозговая травма					
		Модельная патология (n = 10)	Пира- цетам, 200 мг/кг (n = 10)	Корви- тин, 100 мг/кг (n = 10)	Липо- фла- вон, 370 мг/кг (n = 10)	Корви- тин, 150 мг/кг (n = 10)	Липо- фла- вон, 555 мг/кг (n = 10)
Супер- оксиддисму- таза, Е/г ткани	638,0± 67,1	549,0± 40,1	708,0± 81,0	781,0± 87,0#	1064,0± 49,0@#*	953,4± 54,0@#*	866,0± 46,0@#&
Каталаза, мккат/г ткани	96,8± 10,1	140,0± 5,1@	134,0± 11,5@	49,4± 3,9@#*	72,7± 3,9@#*	95,1± 6,6#*&	63,8± 1,4@#*&

Примечания: n – количество животных в группах; вероятные отличия (p<0,05): @ – с группой интактного контроля, # – с группой модельной патологии, \* – с группой парацетама, & – с показателем на фоне того же препарата в меньшей дозе кверцетина.

В группе МП отмечалось снижение активности СОД на 13,9%. Парацетам способствовал её повышению на 10,9% относительно интактного контроля и на 28,9% относительно показателя МП. Наибольшее повышение активности СОД имело место в группах липофлавона и корвитина в дозах соответственно 370 мг/кг и 150 мг/кг, что эквивалентно 10 мг/кг и 15 мг/кг по кверцетину. В группе липофлавона 370 мг/кг активность СОД увеличилась на 66,8% относительно интактного контроля (p<0,001), на 93,8% по сравнению с модельной патологией (p<0,001) и на 50,3% по отношению к группе парацетама (p<0,002). У крыс, получавших корвитин в дозе 150 мг/кг, отмечено увеличение активности СОД на 49,4% относительно интактного контроля (p<0,002), на 73,7% относительно МП (p<0,001) и на 34,7% против эффекта парацетама (p<0,05). В отличие от СОД в группе МП имел место рост активности каталазы на 44,6% (p<0,002). Подобные изменения наблюдались и в группе парацетама, где активность фермента возросла на 38,4% по сравнению с интактным контролем (p<0,05). Во всех группах, получавших препараты кверцетина, отмечено снижение активности каталазы: на фоне корвитина (100 мг/кг) на 48,9% относительно интактного контроля (p<0,001) и в группах липофлавона (370 мг/кг и 555 мг/кг) – на 24,8% (p<0,05) и 34,1% (p<0,01) соответственно. Только в группе корвитина (150 мг/кг) активность каталазы сохранялась на уровне интактного контроля. Подобное снижение активности этого фермента характерно для эффекта флавоноидов при критических состояниях [4]. Привлекает внимание противоположная дозозависимость влияния обоих препаратов на активность антиоксидантных ферментов: с увеличением дозы корвитина активность СОД и каталазы возрастает, а с увеличением дозы липофлавона активность обоих ферментов, напротив, снижается.

В каскаде ферментативной антиоксидантной защиты первой является супероксиддисмутазная реакция, продукт которой (перекись водорода) далее обезвреживается под влиянием каталазы. Возникает вопрос о возможной роли снижения активности каталазы во всех группах животных, получавших препараты кверцетина, что могло бы способствовать опасному накоплению в мозге перекиси водорода в условиях возросшей активности СОД. Однако существует другой путь обезвреживания перекиси водорода – пероксидазный. Корвитин в относительно малой дозе 30 мг/кг (3 мг/кг по кверцетину) в опыте с моделью острой гипоксической гипоксии повышает активность пероксидазы в головном мозге и других органах [13, 20]. Следовательно, несмотря на относительно низкую активность каталазы на фоне обоих препаратов кверцетина, нет оснований полагать, что перекись водорода накапливается. Подтверждением этому заключению является благоприятный функциональный исход тяжелой ЧМТ: в группе МП за 2 недели летальность составила 50%, тогда как под влиянием липофлавона и корвитина лишь 0-8,3% (p<0,01) при значительно меньшем неврологическом дефиците у выживших животных [7].



Данные, представленные в табл. 3, дают представление о качественном составе эндотоксинов (МСМ) в условиях экспериментальной ЧМТ. Частично этот вопрос изучен на модели легкой черепно-мозговой травмы при применении только корвитина [15]. Но в цитированной публикации отсутствуют данные о конкретных видах МСМ, что не позволяет установить происхождение эндотоксинов.

Наименьшие различия с показателями интактной группы по уровню МСМ, определяемых при длине волны 238 нм, зафиксированы на фоне липофлавона в обеих дозах с показателями МП ( $p < 0,001$ ) и пираретама ( $p < 0,001$ ). Дозы корвитина, эквивалентные по кверцетину, не предотвращали накопление соответствующих МСМ, к которым относятся мочевая кислота, продукты деградации альбумина, фибриногена, неэстерифицированных жирных кислот [10]. Липофлавоны (555 мг/кг) также предотвращали накопление нуклеотидов, содержащих пуриновые основания аденин и гуанин (компонентов МСМ, определяемых при длине волны 254 нм [10]). В остальных экспериментальных группах подобной динамики не было. Корвитин (100 мг/кг) достоверно по отношению к группам интактного контроля и пираретама повышал накопление МСМ, дающих максимум экстинкции при длине волны 260 нм (1-гуанозин, 6-тигуанин [10]). Повышенные концентрации МСМ определялись в венозной крови церебрального бассейна, что соответствует локализации очага поражения в головном мозге.

Таблица 3

**Содержание молекул средней массы (Е/мл) в крови животных в условиях тяжелой экспериментальной черепно-мозговой травмы под влиянием пираретама и препаратов кверцетина**

Длина волны, нм	Интактные животные (n = 10)	Черепно-мозговая травма					
		Модельная патология (n = 10)	Пираретам, 200 мг/кг (n = 10)	Корвитин, 100 мг/кг (n = 10)	Липофлавоны, 370 мг/кг (n = 10)	Корвитин, 150 мг/кг (n = 10)	Липофлавоны, 555 мг/кг (n = 10)
238	0,914 ± 0,005	1,098 ± 0,049@	1,077 ± 0,025@	1,069 ± 0,069@	0,956 ± 0,027# *	1,021 ± 0,015@	0,939 ± 0,023#*
254	0,199 ± 0,005	0,237 ± 0,009@	0,228 ± 0,007@	0,242 ± 0,008@	0,231 ± 0,011@	0,220 ± 0,006@&	0,201 ± 0,003#*&
260	0,156 ± 0,006	0,179 ± 0,006@	0,165 ± 0,006	0,195 ± 0,009@*	0,182 ± 0,012	0,167 ± 0,007&	0,1557 ± 0,005 #
280	0,202 ± 0,009	0,215 ± 0,008	0,205 ± 0,011	0,229 ± 0,011	0,245 ± 0,021	0,220 ± 0,009	0,204 ± 0,009

Примечания: n – количество животных в группах; вероятные отличия ( $p < 0,05$ ): @ – с группой интактного контроля, # – с группой модельной патологии, \* – с группой пираретама, & – с показателем на фоне того же препарата в меньшей дозе кверцетина.

Следует отметить, что во всех экспериментальных группах отсутствуют достоверные изменения количества МСМ, дающих максимум экстинкции при длине волны 280 нм (пиримидиновые основания цитозин и урацил) [10].

Резюмируя комплекс полученных данных, следует отметить антиоксидантные свойства корвитина и липофлавона, очевидно, способствующие реализации церебропротекторной активности при тяжелой ЧМТ. Аналогичный вывод получен на модели ишемического инсульта [16]. Кверцетин обладает свойствами смешанного антиоксиданта, непосредственно нейтрализует продукты ПОЛ и стимулирует антиоксидантные ферменты, особенно СОД, что подтверждается нашими данными, а также активизирует пероксидазу, глутатионпероксидазу и глутатионредуктазу [4, 13, 20]. Определенное значение имеет и антитоксический эффект, присущий в большей степени липофлавоны. Полученные результаты служат экспериментальным обоснованием целесообразности использования препаратов кверцетина – корвитина и особенно липофлавона – при тяжелой черепно-мозговой травме.



**Выводы.** Препараты кверцетина – корвитин и липофлавоны – обладают антиоксидантной активностью в условиях экспериментальной тяжелой черепно-мозговой травмы, особенно эффективно уменьшая накопление диеновых конъюгатов в головном мозге, что способствует реализации церебропротекторного действия. Максимальное повышение активности супероксиддисмутазы в головном мозге при черепно-мозговой травме обеспечивают липофлавоны в дозах 370 мг/кг и 555 мг/кг и корвитин в дозе 150 мг/кг, активность каталазы при этом снижается. Наименьшее количество молекул средней массы – эндотоксинов различных химических групп – в условиях экспериментальной черепно-мозговой травмы образуется при применении липофлавоны в дозе 555 мг/кг. По церебропротекторному эффекту оба препарата кверцетина превосходят пирацетам.

### Литература

1. Билык О.В. Биофлавоноид кверцетин и перспективы его использования в медицине / О.В.Билык, В.К.Рыбальченко, Б.П.Романюк // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2007. – Т.2. – №1. – С.4-9.
2. Ватутін М.Т. Флавоноїд кверцетин: фармакологічні властивості та клінічне використання / М.Т. Ватутін, Т.С. Гончаренко, О.В. Скланная и др. // Ліки. – 2005. – № 3(4). – С.19-27.
3. Віничук С.М. Клінічне та біохімічне обґрунтування доцільності комплексного використання пераксону і корвітину в лікуванні гострого ішемічного інсульту / С.М. Віничук, М.М. Проколів, Г.С. Третятко // Міжнародний неврологічний журнал. – 2011. – №1(39). – С.81-91.
4. Глебов А.Н. Прооксидантно-антиоксидантное состояние организма при окислительном стрессе в условиях введения кверцетина и селективного ингибитора NO-синтазы [Электронный ресурс] / А.Н.Глебов // Режим доступа: [http://www.bsmu.by/index.php?option=com\\_content&view=article&id=1547:~no-&catid=116:32009&Itemid=196](http://www.bsmu.by/index.php?option=com_content&view=article&id=1547:~no-&catid=116:32009&Itemid=196)
5. Горошко О.М. Лікувальні властивості ліпофлавонолу і корвітину при експериментальній гострій нирковій недостатності: автореф. дис. на здобуття наук. ступення канд. фарм наук.: спец: 14.03.05 – «Фармакологія» / О.М. Горошко. – Харків, 2010. – 23 с.
6. Ельский В.Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В.Н. Ельский, С.В. Зяблицев. – Донецк: Новый мир, 2008. – 140 с.
7. Жилияев С.О. Препараты кверцетина как церебропротекторы при тяжелой черепно-мозговой травме в эксперименте / С.О. Жилияев, С.Ю. Штригель // Фармацевтический часопис. – 2012. – №2(22). – С.125-130.
8. Ковалевский А.Н. Замечания по скрининговому методу определения молекул средней массы / А.Н. Ковалевский, О.Е. Нифантьев // Лаб. дело. – 1989. – №5. – С. 35-39.
9. Курсов С.В. Интенсивная терапия у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой / С.В.Курсов, Н.В. Лизогуб, С.Н. Скороплет // Медицина неотложных состояний. – 2008. – №2(15). – С. 44-49.
10. Медицинские лабораторные технологии / [под ред. А.И. Карпищенко] – С. Петербург.: «Интермедика», 2002. – Т.2. – 600 с.
11. Макаревич О. П. Активность супероксиддисмутазы крови в острый период различных заболеваний / О. П.Макаревич, П.П.Голиков // Лаб. дело. – 1983. – №6. – С. 24-27.
12. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова и др. // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16-19.
13. Накусов Т.Т. Влияние кверцетина и дигидрокверцетина на свободнорадикальные процессы в разных органах и тканях крыс при гипоксической гипоксии: автореф. дис. канд. биол. наук: спец. 03.01.04 – «Биохимия» / Т.Т. Накусов. – Ростов на Дону, 2010. – 24с.
14. Острая церебральная недостаточность / В.И.Черный, В.Н. Ельский, Г.А. Городник, А.Н. Колесников. – Донецк: ООО «ИПП «Промінь», 2007. – 514 с.
15. Садовник О.В. Фармакотерапевтична ефективність корвітину при травматичному пошкодженні головного мозку: автореф. дис. канд. фарм. наук: спец. 14.03.05 – «Фармакологія» / О.В. Садовник. – Харків, 2011. – 20 с.
16. Слесарчук В.Ю. Антиоксидантна властивість препаратів кверцетину реалізує їх церебропротективну дію / В.Ю.Слесарчук, В.Й.Мамчур // Досягнення біології та медицини – 2007. – №2 (10). – С.55-57.
17. Современные методы в биохимии / [ под ред. В.Н. Ореховича]. – М.: Медицина, 1977. – 392 с.
18. Природные флавоноиды / Д.Ю. Королькин, Ж.А. Абилов, Р.А. Музыкакина, Г.А. Толстикова. – Новосибирск: Академическое изд-во "Тео", 2007. – 232 с.
19. Царенко С.В. Интенсивная терапия заболеваний и повреждений мозга / С.В.Царенко, В.В. Крылов // Неврологический журнал. – 2005. – №2. – С.9-13.
20. Antioxidative action of flavonoids, quercetin and catechin, mediated by the activation of glutathione peroxidase / H. Nagata, S. Takekoshi, T. Takagi et al. // Tokai J. Exp. Clin. Med. – 1999. – V.24, №1. – P.1-11.



## **EXPERIMENTAL RESEARCH OF THE EFFECT OF CORVITIN AND LIPOFLAVON ON PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE AND ENDOTOXICOSIS IN CRANIOCEREBRAL TRAUMA**

**S.A. ZHYLYAYEV  
S.Y. SHTRYGOL**

*National University  
of Pharmacy,  
Kharkiv, Ukraine*

*e-mail: stanislav\_zhilya@mail.ru*

In rats with experimental severe craniocerebral trauma the influence of quercetin preparations, such as corvitin (water-soluble form) and lipoflavon (liposomal form), on brain antioxidant system enzymes activity (superoxide dismutase and catalase), content of lipid peroxidation products (diene conjugates and TBA-reactants) were investigated. Also the content of intermediate mass molecules (which are detected on 238 nm, 254 nm, 260 nm, 280 nm wave length) in the blood was determined. Corvitin in the dose 150 mg/kg and lipoflavon in the dose 555 mg/kg reduced diene conjugates level. These medicines stimulated superoxide dismutase, but caused a decrease in catalase activity. Lipoflavon also diminished endotoxycosis.

Keywords: craniocerebral trauma, corvitin, lipoflavon, quercetin, lipid peroxidation, endotoxycosis.