



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 661.718.6:577.121.7:616.831-005.1-092.9

ВЛИЯНИЕ ОК-7 НА СОСТОЯНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА У ЖИВОТНЫХ С МОЗГОВЫМ ИНСУЛЬТОМ

**В.Д. ЛУКЬЯНЧУК
И.А. ЖИТИНА**

*ГУ «Луганский государственный
медицинский университет»,
Украина*

e-mail: Zhytina-Ira@rambler.ru

В статье описано влияние ОК-7 на состояние энергетического гомеостаза в организме крыс в условиях острого ишемического инсульта. Введение ОК-7 с лечебной целью приводит к интенсификации биосинтетических процессов в клетке, повышению интенсивности реакций фосфорилирования и, как следствие, восстановлению метаболических процессов в ткани мозга.

Ключевые слова: острый ишемический инсульт, калиевой соли бис(цитрато)германатной кислоты (ОК-7), энергетический обмен.

Синдром ишемии при остром инсульте, как известно, определяет тяжесть функционально-морфологического поражения мозга, а главным патобиохимическим компонентом этого синдрома является энергодефицит.

Сохранение энергетического гомеостаза мозга в условиях ишемических церебральных расстройств осуществляется при участии ряда саморегулирующих систем, поддерживающих баланс между энергозатратными и энергопродуцирующими процессами. При нарушениях энергообразующих процессов, лежащих в основе ишемического церебрального инсульта, именно дисбаланс энергетического метаболизма негативно сказывается на исходе этого экстремального состояния [1].

В настоящее время синтезированы и фармакологически исследованы множество германийорганических соединений различной химической структуры, отличающиеся широким спектром фармакодинамических эффектов [2]. Ранее проведенные нами исследования [3, 4] на модели острого ишемического инсульта доказали весьма высокую фармакотерапевтическую эффективность оригинального соединения – калиевой соли бис(цитрато)германатной кислоты (ОК-7).

Целью данного фрагмента комплексного исследования было изучить влияние ОК-7 на состояние энергетического гомеостаза при острой цереброваскулярной недостаточности ишемического генеза.

Материалы и методы. Опыты выполнены на 72 половозрелых белых нелинейных крысах массой 160-200 г в соответствии с методическими рекомендациями Министерства здравоохранения Украины [5] в лаборатории кафедры фармакологии ГУ «Луганский государственный медицинский университет». В качестве экспериментальной модели острой ишемии головного мозга служил патологический процесс, развивающийся у животных при двусторонней одномоментной окклюзии общих сонных артерий в месте их бифуркации на внешнюю и внутреннюю ветви под натрий-тиопенталовым наркозом (50 мг/кг). Крысы были разделены на четыре группы: интактную, контрольную (ишемия), референтную (ишемия + пирацетам) и опытную (ишемия + ОК-7). Животным опытной группы вводили внутривенно 1% водный раствор ОК-7 в предварительно установленном с помощью метода математического планирования режима дозирования (65 мг/кг через 35 минут после перевязки сосудов) [6]. Контрольной группой в таком же режиме вводили эквивалентный объем изотонического раствора натрия хлорида. В качестве референтного препарата использовали пирацетам, который, по мнению различных авторов, [7, 8] являет-

ся «золотым стандартом» в лечении церебральной ишемии. Пирацетам (Фармак, Украина, 20% раствор в ампулах по 5 мл) вводили внутривенно в дозе 250 мг/кг.

Оценку состояния энергетического гомеостаза проводили путем определения содержания АТФ, АДФ и АМФ в эритроцитах методом тонкослойной хроматографии на пластинках фирмы «Merck» (Германия). На основании полученных данных рассчитывали комплекс показателей, характеризующих состояние энергетического обмена в условиях эксперимента: энергетический заряд (ЭЗ) по формуле $ЭЗ = (АТФ + 1/2 АДФ) / (АТФ + АДФ + АМФ)$, энергетический потенциал (ЭП) по соотношению $ЭП = АТФ / АДФ$, сравнительный коэффициент (Кср) по формуле $Кср = (АТФ * АМФ) / АДФ$, индекс фосфорилирования (ИФ) по соотношению $ИФ = АТФ / (АДФ + АМФ)$, термодинамический контроль дыхания (ТКД) $ТКД = АДФ / АМФ$, степень фосфорилирования (СФ) $СФ = АТФ / (АДФ * Ф_n)$ [9].

Исследования выполнены в динамике через 1, 6, 24 часа после моделирования патологии. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия Стьюдента [10].

Результаты исследований и их обсуждение. Для всесторонней оценки влияния исследуемого германийорганического соединения ОК-7 на состояние энергетического обмена считали целесообразным исследовать именно те параметры, которые определяются путем вычисления соотношения компонентов аденилнуклеотидной системы.

Данные о влиянии потенциального церебропротектора в изучаемых условиях эксперимента представлены на рис. 1, из которого видно, что в контрольной серии величина ЭЗ в среднем на 42% меньше, чем этот показатель у крыс интактной группы. Поскольку уровень ЭЗ, который, как известно [11], регулирует скорость расходов и синтеза энергии в клетке и позволяет определить ее энергетические возможности за счет скорости метаболизма АТФ, АДФ, АМФ, то, по нашему мнению, полученные в контроле данные свидетельствуют о преобладании энергопотребляющих процессов над энергообразующими и о большом риске повреждения и гибели клеток головного мозга в условиях тотальной ишемии.

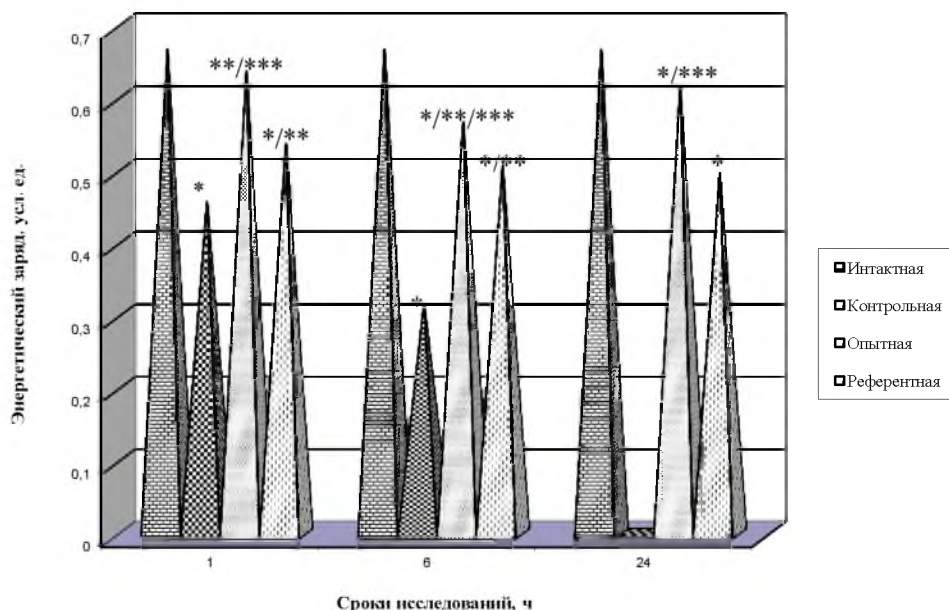


Рис. 1. Влияние ОК-7 на динамику изменений энергетического заряда у крыс с острым ишемическим инсультом (n=7-8)

Примечания:

- * – достоверность по сравнению с интактными;
- ** – достоверность по сравнению с контролем;
- *** – достоверность по сравнению с пирацетамом.

Введение же с лечебной целью ОК-7 уже через 1 час после перевязки каротидных сосудов достоверно ($P < 0,001$) повышает ЭЗ по сравнению с контролем на 28%, а через 6 часов – на 44%. При этом следует особо отметить, что значение данного показателя в опытной группе животных достоверно ($P < 0,001-0,01$), больше чем при применении пирацетама. Следовательно, представленные данные дают основание полагать, что применение потенциального цереброп-



ротектора не только предупреждает повышение интенсивности процессов энергопотребления, но и увеличивает энергообразование в клетке в условиях церебральной ишемии.

Анализ динамики изменения ЭЗ при введении ОК-7 на фоне ишемического инсульта свидетельствует о восстановлении энергетического обмена и активации реакций биосинтеза в нейронах головного мозга, что следует расценивать как одну из ключевых сторон фармакодинамики данного церебропротектора.

Оценивая динамику модификации ЭП, который указывает на скорость дыхания в митохондриях [12], установлено, что при острой цереброваскулярной недостаточности (см. рис. 2) (контрольная серия) этот показатель в среднем в 2 раза меньше ($P < 0,001$) по сравнению со «здоровыми» животными.

При применении же ОК-7 с лечебной целью уже на 1 час исследования величина ЭП достоверно ($P < 0,001$) больше, чем в контроле, на 48%. Это, используя данные литературы [13], можно расценивать как способность исследуемого германийорганического соединения предупреждать снижение скорости дыхания митохондрий нейронов.

Сроки исследования, ч

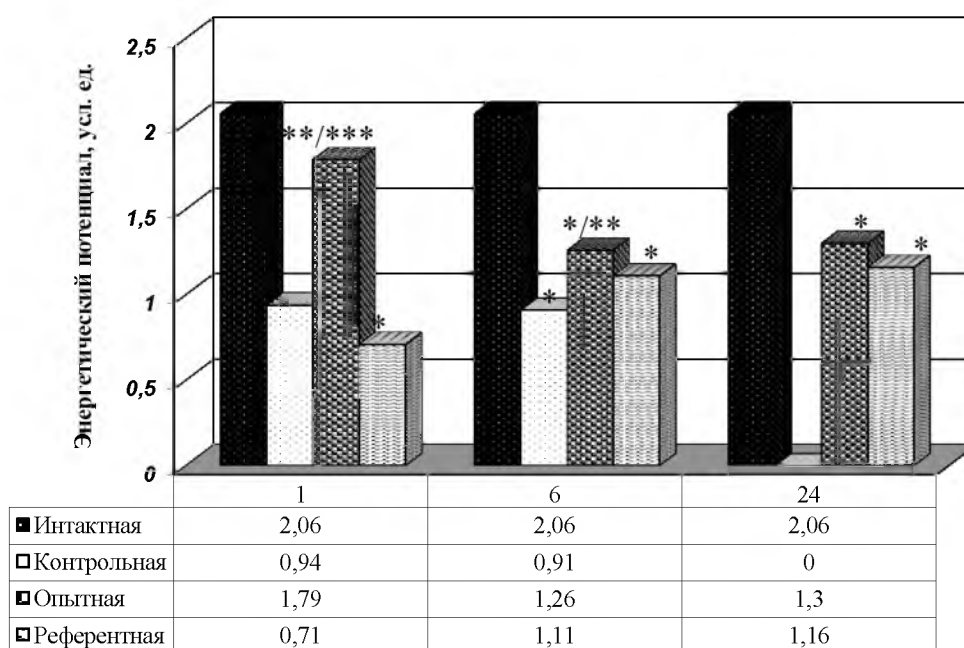


Рис. 2. Влияние ОК-7 на динамику изменений энергетического потенциала у крыс с острым ишемическим инсультом ($n=7-8$)

Примечания: см. рис. 1.

К этому следует добавить, что уровень ЭП в группе животных, леченых ОК-7, на 6 и 24 часах исследования не отличается ($P > 0,05$) от значений данного параметра у крыс с острой ишемией головного мозга на фоне коррекции парацетамом.

Достаточно информативным показателем, который весьма объективно отражает состояние процессов окислительного фосфорилирования, является ТКД, указывающий на зависимость скорости дыхания от интенсивности фосфорилирования в организме [14]. Как видно из рис. 3, величина ТКД в контрольной серии в среднем в 3,2 раза меньше, чем такой же показатель в интактных животных. Это, по нашему мнению, связано с разобщением процессов окисления и фосфорилирования в электрон-транспортной цепи митохондрий и свидетельствует о преобладании энергопотребляющих процессов над энергосинтезом у крыс с моделируемой формой мозгового инсульта.

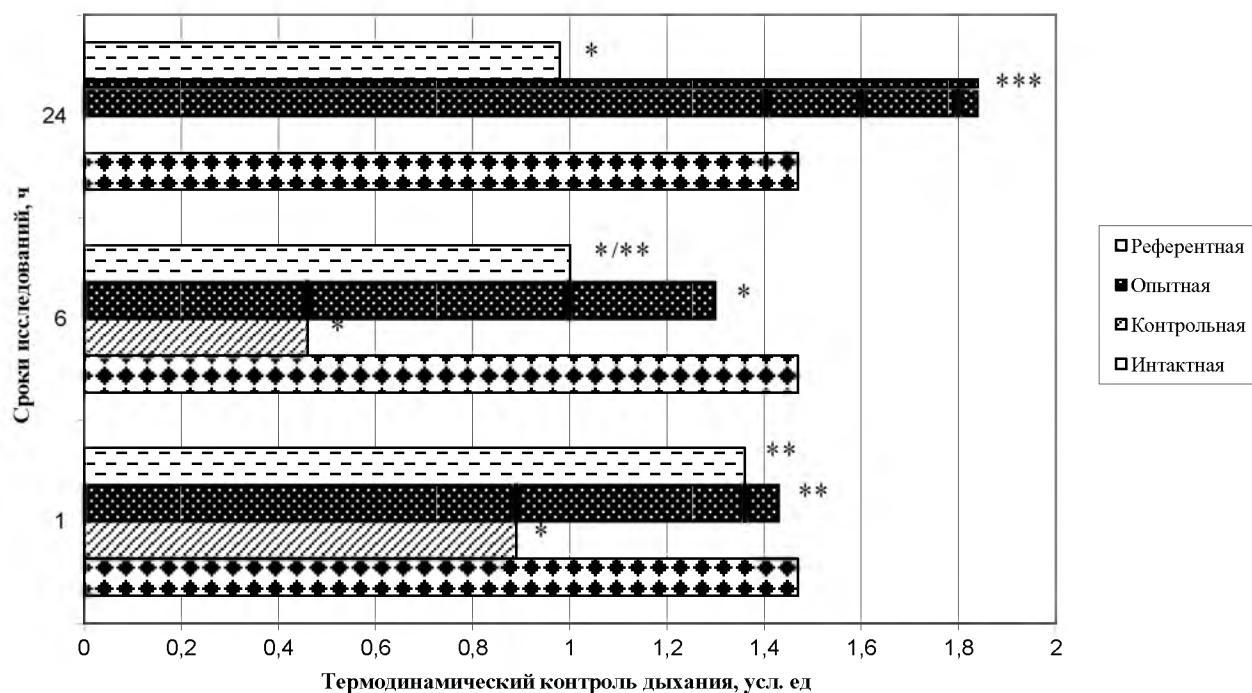


Рис. 3. Влияние ОК-7 на динамику изменений энергетического заряда у крыс с острым ишемическим инсультом (n=7-8)

Примечания: см. рис. 1.

Иная картина наблюдается в группе крыс, которым вводили с лечебной целью исследуемое германийорганическое соединение ОК-7, а именно: на протяжении всего эксперимента значения ТКД достоверно ($P > 0,05$) не отличаются от такового, регистрируемого у «здоровых» животных, а также и у крыс референтной группы, что свидетельствует о нормализации пула аденилнуклеотидной системы и восстановлении уровня ТКД.

Информативно значимым показателем энергообмена также является коэффициент сравнения, отражающий отношение АТФ и АМФ к АДФ и указывающий на соотношение прямой и обратной реакции превращения АДФ [15].

Результаты определения K_{cp} в изучаемых условиях эксперимента представлены в таблице, из которой следует, что у контрольных животных наблюдается увеличение этого параметра на 56% по сравнению с интактной серией. Это можно объяснить включением энергозависимых компенсаторных реакций со сдвигом системы адениловых нуклеотидов в сторону АМФ.

При применении же ОК-7 K_{cp} уже через 1 и 6 часов после перевязки общих сонных артерий достоверно не отличается ($P > 0,05$) от интактной серии, а спустя 6 и 24 часа даже достоверно ($P < 0,05$) лучше препарата-референта. В опыте K_{cp} снижается за счет того, что под влиянием ОК-7 уменьшается уровень АМФ. Это свидетельствует не только о мембраностабилизирующих свойствах исследуемого германийорганического препарата, но и о его способности повышать интенсивность НАД-зависимого пути окисления.

Индекс фосфорилирования, который отражает отношение АТФ к сумме АДФ и АМФ в контроле существенно снижается в среднем в 3,9 раза по сравнению с интактной серией, что еще раз подтверждает стабильность нарушений энергетического гомеостаза в организме животных в условиях острой ишемии головного мозга.

В то же время, у животных опытной группы, которым с лечебной целью вводили ОК-7, данный показатель достоверно ($P < 0,001$) больше (в 2,5 раза), чем в контрольной серии. Это, как нам представляется, указывает на коррекцию дисбаланса соотношений отдельных макроэргических фосфатов, что согласуется с данными литературы [16]. Следует отметить, что ИФ при применении ОК-7 также достоверен ($P < 0,001-0,05$) относительно интактной и референтной групп. Эти сведения можно расценивать как достаточно высокую способность потенциального церебропротектора предупреждать нарушения баланса ключевых компонентов энергетического обмена при исследуемом патологическом состоянии.



Таблица

**Влияние ОК-7 на показатели энергетического обмена (отн. ед.)
у крыс с острой ишемией головного мозга (n=7-8)**

| Группы животных | Статистический показатель | Сроки исследований (в часах с момента окклюзии сонных артерий) | | |
|-------------------------------------|---------------------------|---|---------|---------|
| | | 1 | 6 | 24 |
| Коэффициент сравнения | | | | |
| Интактная | M | 1410,26 | | |
| | ±m | 189,70 | | |
| Контрольная (ишемия) | M | 1345,60 | 2276,04 | - |
| | ±m | 176,95 | 450,15 | - |
| | P ₁ | >0,05 | >0,05 | - |
| Опытная (ОК-7+ишемия) | M | 1557,57 | 1099,59 | 789,03 |
| | ±m | 238,32 | 153,43 | 102,79 |
| | P ₁ | >0,05 | >0,05 | <0,05 |
| | P ₂ | >0,05 | <0,05 | - |
| Референтная (Пирацетам + ишемия) | M | 973,68 | 1162,33 | 1213,85 |
| | ±m | 105,96 | 72,80 | 134,18 |
| | P ₁ | >0,05 | >0,05 | >0,05 |
| | P ₂ | >0,05 | <0,05 | - |
| Индекс фосфорилирования | | | | |
| Интактная | M | 1,20 | | |
| | ±m | 0,07 | | |
| Контрольная (ишемия) | M | 0,43 | 0,24 | - |
| | ±m | 0,03 | 0,01 | - |
| | P ₁ | <0,001 | <0,001 | - |
| Опытная (ОК-7+ишемия) | M | 0,99 | 0,68 | 0,80 |
| | ±m | 0,05 | 0,03 | 0,07 |
| | P ₁ | <0,05 | <0,001 | <0,01 |
| | P ₂ | <0,001 | <0,001 | - |
| Референтная (Пирацетам + ишемия) | M | 0,58 | 0,54 | 0,55 |
| | ±m | 0,02 | 0,03 | 0,04 |
| | P ₁ | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| | P ₂ | <0,01 | <0,001 | - |
| Степень фосфорилирования | | | | |
| Интактная | M | 0,84 | | |
| | ±m | 0,05 | | |
| Контрольная (ишемия) | M | 0,47 | 0,68 | - |
| | ±m | 0,03 | 0,09 | - |
| | P ₁ | <0,001 | >0,05 | - |
| Опытная (ОК-7+ишемия) | M | 0,72 | 0,71 | 0,70 |
| | ±m | 0,04 | 0,07 | 0,05 |
| | P ₁ | >0,05 | >0,05 | >0,05 |
| | P ₂ | <0,01 | >0,05 | - |
| Референтная (Пирацетам + ишемия) | M | 0,50 | 0,69 | 0,65 |
| | ±m | 0,04 | 0,06 | 0,04 |
| | P ₁ | <0,001 | >0,05 | <0,05 |
| | P ₂ | >0,05 | >0,05 | - |

Примечания:P₁ – достоверность по сравнению с интактными животными;P₂ – достоверность по сравнению с контролем;P₃ – достоверность по сравнению с пирацетамом.

Известно, что клетка может изменять скорость синтеза АТФ, которая сопровождает процессы окисления, чтобы удовлетворять потребности организма в энергии. Фактором, определяющим способность к такой адаптации, является степень фосфорилирования [15]. Итак, при оценке изменения величины СФ в динамике обращает на себя внимание уменьшение этого показателя энергообмена у крыс контрольной группы в среднем на 31,5% по сравнению со «здоровыми» животными.



выми» животными, что, по нашему мнению, обусловлено повышением концентрации АДФ в остром периоде ишемического инсульта.

Введение же исследуемого германийорганического соединения характеризуется стабилизацией уровня СФ, а именно, на протяжении всего эксперимента данный показатель не отличается ($P > 0,05$) от такового в интактной серии и достоверно выше ($P < 0,01$) чем в группе сравнения через 1 час после окклюзии сонных артерий. Эти результаты с нашими суждениями о том, что ОК-7 способен либо индуцировать синтез АТФ или предупредить его деградацию при моделируемой форме острой цереброваскулярной недостаточности.

Выводы. Тотальная ишемия головного мозга при двусторонней перевязке общих сонных артерий приводит к прогрессирующим энергетическим нарушениям – в основе которых лежит дисбаланс макроэргических фосфатов в ткани мозга.

Вместе с тем, результаты проведенной серии исследований весьма убедительно свидетельствуют о выраженной церебропротекторной эффективности оригинального соединения – калиевой соли бис(цитрато)германатной кислоты (ОК-7) в условиях острой цереброваскулярной недостаточности ишемического генеза, в основе которой лежат процессы нормализации показателей энергетического обмена в организме животных.

Литература

1. Евсеев, В.Н. Церебральная ишемия и ее коррекция антиоксидантами / В.Н. Евсеев, С.А. Румянцева, Е.В. Силина, О.П. Сохова, С.П. Свищева // Русский медицинский журнал. – 2011. – Т. 19, № 5. – С. 325-328.
2. Годован, В.В. Фармакологічні властивості нових похідних германієвих солей дифосфонових кислот з біолігандами: автореф. дис... доктора мед. наук / В.В. Годован. – Одесса: ОДМУ, 2008. – 32 с.
3. Лук'янчук, В.Д. Скринінг і порівняльна оцінка протиішемічної ефективності серед координаційних сполук германію при гострій цереброваскулярній недостатності / В.Д. Лук'янчук, І.О. Житіна, І.І. Сейфулліна, О.Е. Марцинка, О.Г. Песарогло // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 1-2 (14-15). – С. 61-64.
4. Калій бис(цитрато)германат (IV), що виявляє протиішемічну активність: пат. 71812 Україна. МПК А61Р 9/00 А61К 33/00 / Лук'янчук В.Д., Житіна І.О., Сейфулліна І.І., Марцинка О.Е., Песарогло О.Г.; Заявник та патенто власник ДЗ «Луганський державний медичний університет». – № 2012 00929; заявл. 30.01.2012; опубл. 25.07.2012, Бюл. – № 14.
5. Доклинические исследования лекарственных средств: [метод. рекоменд. / под. ред. член-кор. АМН Украины А.В. Стефанова]. – К.: ГФЦ МЗ Украины, 2002. – 567 с.
6. Лук'янчук, В.Д. Експериментально-математичний аналіз режиму застосування потенційного нейропротектора ОК-7 при церебральному ішемічному інсульті / В.Д. Лук'янчук, І.О. Житіна, Д.С. Кравець, І.І. Сейфулліна, О.Е. Марцинка, О.Г. Песарогло // Одеський медичний журнал. – 2010. – № 6 (128). – С. 19-21.
7. Дунаев, В.В. Сравнительная фармакологическая активность натриевой соли никотиноил гамма-аминомасляной кислоты и пирacetам в условиях моделирования ишемического и геморрагического повреждения головного мозга / В.В. Дунаев, И.Н. Башкин, В.С. Тишкин, А.В. Тихоновский, И.Ф. Беленичев / Вестник МГОУ «Естественные науки». – 2011. – № 2. – С. 21-25.
8. De Deyn, P.P. Treatment of acute ischemic stroke with piracetam. Members of the piracetam in Acute Stroke Study (PASS) group / P.P. De Deyn, J.D. Reuck, W. Deberdt, R. Vlietinck, J.M. Orgogozo // Stroke. – 1997. – Vol. 28 (12). – P. 2347-2352.
9. Ленинджер, А. Основы биохимии / А. Ленинджер. – М.: Мир, 1985. – Т. 1-3. – 1056 с.
10. Гланц, С. Медико-биологическая статистика: пер с англ. / С. Гланц. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
11. Султанов, В.С. Церебропротекторные и энергостабилизирующие эффекты полипиренольного препарата ропрена при ишемии головного мозга у крыс / В.С. Султанов, И.В. Зарубина, П.Д. Шабанов / Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2010. – Т. 8, № 3. – С. 31-48.
12. Рисухина, Н.В. Фармакокоррекция координационным соединением германия с магнием и оксидилдифосфоновой кислотой нарушений энергетического гомеостаза при синдроме длительного раздавливания / Н.В. Рисухина // Український медичний альманах. – 2008. – № 4. – С. 126-132.
13. Сачок, В.В. Вплив блокаторів кальцієвих каналів, амлодипіну та димедипіну, на стан енергетичного обміну в серці щурів за умов адреналінової міокардіодістрофії / В.В. Сачок, Л.Л. Аршиннікова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 4 (29). – С. 40-43.
14. Лук'янчук, В.Д. Стан енергетичного гомеостазу у щурів при застосуванні потенційного церебропротектора – ОК-3 в умовах закритої черепно-мозкової травми / В.Д. Лук'янчук, А.А. Висоцький, І.І. Сейфулліна // Ліки. – 2007. – № 1. – С. 38-41.
15. Высоцкий, И.Ю. Влияние метаболитотропных препаратов на некоторые показатели энергетического обмена в условиях острого токсического поражения печени летучими компонентами эпоксидной смолы ЭД-20 / И.Ю. Высоцкий, Е.И. Высоцкая // Вісник СумДУ. Серія Медицина. – 2009. – № 1. – С. 15-21.
16. Супрун, Э.В. Коррекция антагонистом рецепторов интерлейкина-1 показателей энергетического метаболизма в головном мозге крыс с экспериментальным ишемическим инсультом / Э.В. Супрун // Экспериментальная і клінічна медицина. – 2010. – № 1. – С. 64.



EFFECT OF OK-7 ON THE STATE OF ENERGY METABOLISM IN ANIMALS WITH CEREBRAL STROKE

**V.D. LUKYANCHUK
I.A. ZHYTINA**

***SE «Lugansk State Medical
University»
(Lugansk, Ukraine)***

***e-mail: Zhytina-
Ira@rambler.ru***

The article describes the effects of OK-7 on the state of energy homeostasis in rats with acute ischemic stroke. Administration of OK-7 for therapeutic purposes leads to the intensification of the biosynthetic processes in the cell, increases the intensity of the phosphorylation reactions and, as a consequence, the restoration of the metabolic processes in the brain.

Key words: acute ischemic stroke, potassium salt of bis(citrate)germinate acid OK-7), energy exchange.