

УДК 547.831.8:615.214.32:616.831-001:577.121

<https://doi.org/10.24959/ubphj.19.241>

І. М. Подольський, Д. В. Литкін, С. Ю. Штриголь, В. В. Цивунін

Національний фармацевтичний університет, Україна

ВПЛИВ АТРИСТАМІНУ НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ ПІСЛЯ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ

Актуальність. Одним із можливих механізмів реалізації доведених у попередніх дослідженнях церебропротекторних властивостей атристаміну може виступати вплив на прооксидантно-антиоксидантний баланс у тканині головного мозку тварин, який значною мірою обумовлює подальший розвиток наслідків черепно-мозкової травми.

Мета роботи – з'ясування характеру впливу атристаміну на прооксидантно-антиоксидантний баланс у головному мозку щурів після черепно-мозкової травми.

Матеріали та методи. Показники пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту оцінювали в гомогенаті мозку щурів на третю добу після відтворення черепно-мозкової травми.

Результати та їх обговорення. На тлі застосування атристаміну порівняно з показниками групи контрольної патології достовірно знижувалась активність супероксиддисмутази (на 50,8 %), зменшувався вміст ТБК-реактантів (у 3,1 рази) та продуктів окисної модифікації білків, збільшувався вміст дієнових кон'югатів (у 2,4 рази). Слід зауважити, що у групі тварин, які одержували атристамін, порівняно з інтактним контролем спостерігалось достовірне зниження вмісту відновленого глутатіону (у 2,1 рази). До того ж цей показник у групі атристаміну мав тенденцію до зниження (на 41,6 %) порівняно таким у групі контрольної патології.

Висновки. Аналіз експериментальних даних показав, що атристамін швидше за все не чинить прямої антиоксидантної дії, проте активно залучає глутатіонову систему до антиоксидантного захисту головного мозку та переключає реалізацію антиоксидантних механізмів на утилізацію відновленого глутатіону з домінуючим впливом на запобігання утворенню вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів за рахунок активно використання ресурсів глутатіонової системи.

Ключові слова: атристамін; 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-он; черепно-мозкова травма; церебропротекторна активність; пероксидне окиснення ліпідів; системи антиоксидантного захисту

I. Podolsky, D. Lytkin, S. Shtrygol', V. Tsyvunin

National University of Pharmacy, Ukraine

The effect of atristamine on prooxidant-antioxidant balance in the rat brain after traumatic brain injury

Topicality. One of the possible mechanisms for the realization of the cerebroprotective properties of atristamine proven in previous studies is the effect on prooxidant-antioxidant balance in the brain tissue of animals, which greatly predetermines the further development of traumatic brain injury consequences.

Aim. To ascertain the nature of atristamine effect on prooxidant-antioxidant balance in the rat brain after traumatic brain injury.

Materials and methods. Indicators of lipid peroxidation and antioxidant defense were determined in rat brain homogenate on the 3rd day after traumatic brain injury.

Results and discussion. According to the obtained results, the significant reduction of superoxide dismutase activity (by 50.8 %), the decrease in contents of TBA-reactants (by 3.1 times) and oxidative modification products of proteins, the increase in diene conjugates content (by 2.4 times) were observed after treatment using atristamine in comparison with the indicators of the disease group. It should be noted that significant decrease in the content of reduced glutathione was observed (by 2.1 times) in the group of animals treated with atristamine compared to the intact control group. Furthermore, this indicator in the atristamine group tended to decrease (by 41.6%) compared to that in the disease group.

Conclusions. The analysis of experimental data showed that atristamine probably does not possess a direct antioxidant effect. Evidently, it actively involves the glutathione system to the antioxidant defense of the brain and switches the implementation of antioxidant mechanisms to the utilization of reduced glutathione with a dominant effect on preventing the formation of secondary products of lipid peroxidation at the expense of active use of the glutathione system resources.

Key words: atristamine; 2-methyl-3-(phenylaminomethyl)-1H-quinolin-4-one; traumatic brain injury; cerebroprotective activity; lipid peroxidation; antioxidant defense systems

И. Н. Подольский, Д. В. Лыткин, С. Ю. Штрыголь, В. В. Цивунин

Национальный фармацевтический университет, Украина

Влияние атристамина на прооксидантно-антиоксидантный баланс в головном мозге крыс после черепно-мозговой травмы

Актуальность. Одним из возможных механизмов реализации доказанных в предыдущих исследованиях церебропротекторных свойств атристамина может являться влияние на прооксидантно-антиоксидантный баланс в ткани головного мозга животных, который в значительной степени обуславливает дальнейшее развитие последствий черепно-мозговой травмы.

Цель работы – установление характера влияния атристамина на прооксидантно-антиоксидантный баланс в головном мозге крыс после черепно-мозговой травмы.

Материалы и методы. Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты оценивали в гомогенате мозга крыс на третьи сутки после воспроизведения черепно-мозговой травмы.

Результаты и их обсуждение. На фоне применения атристамина по сравнению с показателями группы контрольной патологии достоверно снижалась активность супероксиддисмутазы (на 50,8%), уменьшалось содержание ТБК-реактантов (в 3,1 раза) и продуктов окислительной модификации белков, увеличивалось содержание диеновых конъюгатов (в 2,4 раза). Следует заметить, что в группе животных, получавших атристамин, по сравнению с интактным контролем наблюдалось достоверное снижение содержания восстановленного глутатиона (в 2,1 раза). Более того, этот показатель в группе атристамина имел тенденцию к снижению (на 41,6%) по сравнению с таковым в группе контрольной патологии.

Выводы. Анализ экспериментальных данных показал, что атристамин скорее всего не проявляет прямого антиоксидантного действия, однако активно вовлекает глутатионовую систему в антиоксидантную защиту головного мозга и переключает реализацию антиоксидантных механизмов на утилизацию восстановленного глутатиона с доминирующим влиянием на предотвращение образования вторичных продуктов перекисного окисления липидов за счет активного использования ресурсов глутатионовой системы.

Ключевые слова: атристамин; 2-метил-3-(фениламинометил)-1Н-хинолин-4-он; черепно-мозговая травма; церебропротекторная активность; перекисное окисление липидов; системы антиоксидантной защиты

ВСТУП

Головний мозок є особливим органом в аспекті перебігу процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Він має високий ризик до їх індукції через надзвичайно високу утилізацію кисню (50% від загальної в організмі) та відсутність анаеробних шляхів обміну, а також містить найвищу кількість субстратів цих реакцій, оскільки складається переважно з ліпідів. При цьому активність ферментативних систем антиоксидантного захисту (АОЗ) в нервовій тканині значно менша, ніж в інших та має свої особливості [1]. При порушенні мозкового кровообігу та виникненні осередків ішемії дихальний ланцюг у мітохондріях нейронів стає головним джерелом продукції активних форм кисню (АФО): при пошкодженнях легкого та середнього ступенів тяжкості – головним чином супероксидрадикалу, у випадку значної некролізу та тяжких пошкоджень – гідроксильних радикалів. Через локальну ішемію зростає кількість відновлених проміжних субстратів дихального ланцюга. Останні, в свою чергу, можуть приводити до одностороннього відновлення кисню, який вже потрапив у мітохондрії, що в певному сенсі можна вважати захисним механізмом в умовах черепно-мозкової травми (ЧМТ). Це дозволяє використовувати окиснені переносники електронів у подальших реакціях енергетичного метаболізму, в тому числі в циклі трикарбонових кислот (також при окисненні пірвіноградної кислоти), що не приводить до накопичення кетокислот та не провокує подальший розвиток факторів ризику порушення стабільності пацієнтів з ЧМТ – набряку мозку та метаболічного ацидозу.

Церебропротекторні властивості перспективного антидепресанта 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-ону (атристаміну, рис.) доведено на моделі ЧМТ легкого ступеня у щурів за допомогою поведінкових методик [2], морфологічно та морфометрично [3, 4].

Показано, що атристамін у дозі 100 мг/кг знижує неврологічний дефіцит за шкалою McGraw вже на другу добу після відтворення ЧМТ, покращує по-

казники орієнтувально-дослідницької активності та емоційних реакцій у тесті «відкрите поле», м'язовий тонус та координацію рухів у тесті «вертикальний екран», знижує рівень тривожності у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт», чинить позитивний вплив на когнітивні функції у тесті екстраполяційного вивільнення, не знижує фізичну витривалість у тесті плавання з навантаженням та достовірно знижує рівень депресивності тварин у плавальному тесті Порсолта [2].

Морфологічні дослідження підтвердили, що на тлі застосування атристаміну (100 мг/кг) у щурів зменшується виразність ознак розладу мікроциркуляції та набряку у всіх досліджених структурах головного мозку (сенсомоторній корі (СМК) великих півкуль, корі мозочку, судинних сплетіннях у бокових та у ІV мозкових шлуночках), знижується чисельність нейронів із метаболічними розладами, що забезпечує зниження гліо-нейронального та перинеуронального сателітного індексів порівняно з показниками нелікованих тварин, збільшується кількість життєздатних нейронів [3]. Також на тлі застосування атристаміну (100 мг/кг) після ЧМТ спостерігається нормалізація співвідношення структурно-функціональних типів нейронів практично до рівня інтактного контролю, у клітинах Пуркінє корі мозочка зменшується виразність хроматолізу та деструктивних змін, зберігається їх впорядкованість [4].

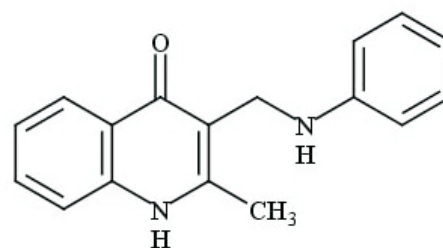


Рис. Структурна формула 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-ону (атристаміну)

Одним із можливих механізмів реалізації доведених у попередніх дослідженнях церебропротекторних властивостей атристаміну може виступати вплив на баланс ПОЛ-АОЗ у тканині головного мозку тварин, який значною мірою обумовлює подальший розвиток наслідків ЧМТ.

Мета даного дослідження – з'ясування характеру впливу атристаміну на баланс ПОЛ-АОЗ у головному мозку щурів після ЧМТ.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальні тварини. Дослідження було проведено на базі ЦНДЛ НФаУ на 26 рандомбредних білих щурах-самцях масою 210-250 г відповідно до директиви Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою [5]. До початку експерименту тварин утримували в стандартних умовах віварію ЦНДЛ НФаУ за природнього світлового режиму «день-ніч» з вільним доступом до води та їжі [6].

Хімічні сполуки та реактиви. В експерименті використовували атристамін (2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-он), синтезований на кафедрі медичної хімії Національного фармацевтичного університету [7]. Досліджувану речовину вводили внутрішньошлунково (в/ш) у вигляді тонкодисперсної суспензії, приготованої за допомогою ізотонічного розчину натрію хлориду і стабілізованої твіном-80, у встановленій у попередніх дослідженнях [2-4] ефективній дозі 100 мг/кг.

Пірацетам (2-(2-оксопіролідин-1-іл)ацетамід) обрано для порівняння на підставі того, що тривалий час його було рекомендовано протоколами лікування ЧМТ [8], а доза 400 мг/кг знаходиться в діапазоні умовно терапевтичних доз в експериментальній нейрофармакології [9, 10]. Препарат порівняння тваринам вводили в/ш як розчин субстанції в ізотонічному розчині натрію хлориду.

Протокол експерименту. Протокол дослідження було гармонізовано з протоколами попередніх досліджень, у яких вивчали церебропротекторні властивості атристаміну після ЧМТ із застосуванням поведінкових тестів [2] та за допомогою морфологічних методик [3, 4].

ЧМТ відтворювали шляхом нанесення механічної травми вантажем масою 50 г на тим'яно-потиличну ділянку склепіння черепа наркотизованих дієтиловим етером щурів. Вантаж вільно падав з висоти 60 см. Енергія удару дорівнювала 0,294 Дж [11].

Методом випадкового вибору було сформовано 4 групи тварин: 1 – інтактна група (n = 6) – тварин наркотизували без відтворення ЧМТ; 2 – контрольної патології (КП, n = 7) – тварин наркотизували та відтворювали ЧМТ без подальшого лікування; 3 –

група атристаміну (n = 7) – тварин піддавали лікуванню атристаміном у дозі 100 мг/кг; 4 – група пірацетама (n = 6) – тварин піддавали лікуванню пірацетамом у дозі 400 мг/кг.

Атристамін та пірацетам вводили тваринам у шлунок за допомогою атравматичного зонду за 30 хв до відтворення ЧМТ та один раз на добу впродовж наступних двох днів в один і той же час. Останнє введення – за 30 хв до вилучення мозку. Тварини з інтактної групи та групи КП отримували еквівалентний об'єм ізотонічного розчину натрію хлориду за аналогічною схемою.

Головний мозок вилучали у наркотизованих щурів (тіопентал-натрій, 60 мг/кг, внутрішньоочеревинно), швидко охолоджували і зберігали до визначення показників за температури -18°C . Таким чином, показники ПОЛ та АОЗ оцінювали в гомогенаті мозку щурів на третю добу після відтворення ЧМТ. За загальноприйнятими спектрофотометричними методами кількісно визначали: пірвіноградну кислоту (ПВК) [12]; дієнові кон'югати (ДК) [13]; вторинні продукти ліпопероксидації – за реакцією малонового діальдегіду з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП) [14]; продукти окисної модифікації білків [15], вміст яких наводили в одиницях екстинкції.

Активність каталази визначали за швидкістю деградації пероксиду гідрогену, реєстрували зміну оптичного поглинання внаслідок його реакції з молібдатом амонію [16]. Активність супероксиддисмутаз (СОД) оцінювали за відсотком інгібування автоокиснення адреналіну [15] та наводили в умовних одиницях. Активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) визначали за відновленням ферриціаніду калію до фероціаніду сукцинатом під дією СДГ та розраховували за кількістю окисненого субстрату [17]. Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали за реакцією з реактивом Елмана [17].

Статистична обробка результатів. Результати статистично обробляли з використанням програмного пакету «STATISTICA 10.0» [18]. Обчислювали медіани, 25 % і 75 % процентилі (Q_{50} (Q_{25} - Q_{75})), а також традиційно вживані середні арифметичні та їх стандартні помилки ($M \pm SEM$). Центральні тенденції незалежних вибірок порівнювали за непараметричним U-критерієм Манна-Уїтні. Статистично значущими вважали результати за $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами експерименту легкий ступінь тяжкості ЧМТ верифікується біохімічно, оскільки не відбувається накопичення ПВК (таблиця), як це має місце при середньому та тяжкому ступенях. Це свідчить про перебіг вищезазначених компенсаторних процесів, які дозволяють стабілізувати енергетичний обмін за рахунок гіперпродукції АФО. Також слід зазначити, що окиснення пірватату – домінуючий шлях

уведення в обмін легкоокиснювальних субстратів у клітинах головного мозку, переважання якого зберігається навіть в екстремальних умовах [19, 20].

В умовах ЧМТ, збільшення утворення АФО, ішемії та часткового інгібування першого комплексу дихального ланцюга (за рахунок безпосередньої взаємодії НАДФН(Н⁺) з киснем) виявляється також інший компенсаторний механізм – збільшення активності СДГ, яка є другим комплексом дихального ланцюга, що й спостерігалось в даному дослідженні (таблиця) у тварин групи КП [21]. Зростання активності СДГ у групі КП було значним (на 29,3 %), але внаслідок великої дисперсії результатів не сягало достатнього рівня достовірності (p = 0,074). Під впливом атристаміну активність СДГ зменшувалась майже до значень інтактних тварин, що вказує на значно менше

інгібування НАДН-дегідрогеназного комплексу в дихальному ланцюгу та, опосередковано, на ймовірно меншу сумарну кількість продукованих АФО.

Цікавим є той факт, що у тварин групи пірацетаму активність СДГ була на 23,3 % достовірно вищою порівняно з такою у групі інтактного контролю і на рівні тенденції (p = 0,074) на 13,1 % вищою за середній показник тварин, які одержували атристамін.

Разом з цим на тлі застосування атристаміну вірогідно зменшувалась активність СОД (таблиця). При цьому зниження відбувалось як відносно групи інтактного контролю (на 50,1 %, p < 0,05), так і порівняно з групою КП (на 50,8 %, p < 0,01).

Враховуючи те, що в умовах ЧМТ легкого ступеня головними продуктами порушення роботи дихального ланцюга мітохондрій стають саме супероксид-

Таблиця

ВПЛИВ АТРИСТАМІНУ ТА ПІРАЦЕТАМУ НА ПОКАЗНИКИ ПОЛ-АОЗ У ТКАНИНІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПІСЛЯ ЧМТ ЛЕГКОГО СТУПЕНЯ, Q₅₀ (Q₂₅-Q₇₅); M ± SEM

Показник, одиниці вимірювання		Група тварин			
		Інтактний контроль, n = 5-6	ЧМТ		
			контрольна патологія, n = 7	атристамін, 100 мг/кг, n = 7	пірацетам, 400 мг/кг, n = 6
Вміст ПВК	ммоль/г	0,077 (0,075-0,084) 0,079 ± 0,002	0,77 (0,071-0,080) 0,076 ± 0,002	0,079 (0,074-0,085) 0,079 ± 0,004	0,069 (0,063-0,077) 0,071 ± 0,004
		0,135 (0,127-0,141) 0,133 ± 0,010	0,160 (0,154-0,199) 0,172 ± 0,012	0,142 (0,132-0,161) 0,145 ± 0,007	0,166 (0,158-0,171)* 0,164 ± 0,004
Активність СДГ	ммоль/г	44,76 (37,06-45,46) 47,41 ± 8,55 n = 5	44,76 (38,46-60,14) 48,15 ± 5,31	23,08 (15,39-28,67)**^^ 23,68 ± 4,17	30,77 (23,08-37,76) 37,53 ± 8,95
Активність СОД	ум. од.	19,46 (10,27-28,11) 18,49 ± 4,73 n = 5	25,41 (10,81-25,95) 19,31 ± 3,17	17,84 (7,03-27,57) 17,99 ± 4,37	17,03 (8,65-22,70) 16,76 ± 3,24
Активність каталази	мккат/г	2,89 (2,89-2,97) 2,94 ± 0,06	2,58 (2,34-3,21) 2,71 ± 0,17	2,27 (2,11-2,58)** 2,29 ± 0,08	2,46 (2,19-2,81) 2,83 ± 0,43
Продукти окисної модифікації білків	274 нм	0,113 (0,105-0,123) 0,123 ± 0,026	0,139 (0,112-0,171) 0,140 ± 0,012	0,096 (0,079-0,113)^ 0,098 ± 0,010	0,148 (0,077-0,180) 0,139 ± 0,024
	356 нм	0,053 (0,042-0,064) 0,050 ± 0,007	0,038 (0,032-0,046) 0,042 ± 0,005	0,044 (0,035-0,066) 0,049 ± 0,006	0,034 (0,025-0,042) 0,035 ± 0,007
	430 нм	0,044 (0,038-0,056) 0,045 ± 0,009	0,050 (0,036-0,067) 0,050 ± 0,006	0,040 (0,030-0,052) 0,043 ± 0,005	0,053 (0,045-0,057) 0,049 ± 0,007
Вміст ТБК-активних продуктів	мкмоль/г	23,72 (23,08-28,20) 25,21 ± 1,71	24,36 (23,08-29,49) 26,19 ± 2,20	5,13 (2,56-15,38)*^ 8,43 ± 3,36	10,26 (6,41-14,10) 14,53 ± 5,50
Вміст ДК	мкмоль/г	3,18 (1,36-8,41) 4,51 ± 1,60	2,73 (1,59-5,23) 3,28 ± 0,80	7,73 (5,23-12,95)^ 7,97 ± 1,41	5,45 (2,73-7,73) 5,95 ± 1,54

Примітка: *, ** – статистично значущі відмінності з показниками групи інтактного контролю, p < 0,05 та p < 0,01 за U-критерієм Манна-Уїтні; ^, ^^ – статистично значущі відмінності з показниками групи контрольної патології; p < 0,05 та p < 0,01 за U-критерієм Манна-Уїтні.

аніони, а, з іншого боку, активність СОД зростає здебільшого в присутності цих АФО, можна припустити декілька варіантів розвитку цього феномену:

1. Атристамін прямо знижує активність СОД, через що до механізму знешкодження АФО залучається тіолова антиоксидантна система, а глутатіон безпосередньо знешкоджує супероксидіони, завдяки чому витрачаються значні запаси GSH, який за умов патологічного стану не встигає регенеруватись. На користь цього свідчить достовірне у 2,1 рази ($p < 0,01$) зниження вмісту GSH у групі тварин, які одержували атристамін, порівняно з інтактним контролем (таблиця). До того ж цей показник у групі атристаміну був на 41,6 % ($p = 0,095$) нижче, ніж у групі КП.

2. Атристамін значно збільшує експресію оксиду нітрогену, через що супероксид швидше перетворюється на пероксинітрит і перестає бути субстратом СОД. Активність СОД зменшується, а для знешкодження цього інтермедиату кисню знову витрачається GSH.

3. СОД активно знешкоджує супероксид (через що активність у дослідних пробах менша), перетворюючи його на пероксид гідрогену та кисень, але з урахуванням особливостей системи АОЗ в головному мозку пероксид здебільшого знешкоджує не каталаза, а глутатіонпероксидаза. Ймовірність цього варіанту дещо протирічить даним груп КП та інтактного контролю, згідно з якими АФО в головному мозку контрольних тварин практично не знешкоджуються зазначеними ферментними системами, проте це може мати місце як у нормі, так і в умовах патології.

У будь-якому випадку, з огляду на незмінну активність каталази та достовірно зменшену кількість GSH у гомогенаті головного мозку можна констатувати, що атристамін активно впливає на залучення глутатіонової системи для боротьби з АФО, що частково виснажує її (таблиця).

Достовірно зменшення вмісту продуктів окисної модифікації білків (таблиця) на тлі застосування атристаміну також свідчить про активне використання глутатіону в антиоксидантному захисті та про нормальну активність антиоксидантних ферментів, що його утилізують.

Крізь призму всіх вищезазначених маркерів зменшення вмісту GSH може бути наслідком лише його ефективного використання як основного клітинного антиоксиданта для знешкодження АФО.

Паралельно процесу накопичення АФО та розладу внутрішньомітохондріальних або внутрішньоклітинних процесів радикали контактують з мембраною та поліненасиченими жирними кислотами в ній, утворюючи ліпопероксидні радикали. Вони не є стабільними – надзвичайно швидко взаємодіють з будь-якими вільними відновлюючими речовинами, що припиняє ланцюг окиснення та перетворює їх на первинні продукти ПОЛ – гідроперекиси ліпідів та дієнові кон'югати, які швидко метаболізуються до низькомолекулярних альдегідів та кетонів (вторинних продуктів ПОЛ), через що мембрана клітин або органел втрачає структурну цілісність. Вторинні продукти ПОЛ – ТБК-АП (особливо

малоновий діальдегід) активно реагують з CH_3 -, NH_2 - та з особливою спорідненістю з SH-групами білків, порушуючи роботу ферментів, зв'язуються з аміногрупами фосфоліпідів та утворюють кінцеві продукти ПОЛ – основи Шиффа. Якщо на першому етапі ПОЛ ефективним може бути будь-який антиоксидант (у тому числі вітамінної природи), то для знешкодження ТБК-АП та запобігання утворення кінцевих продуктів ПОЛ значний ефект має лише глутатіон та інші елементи тіолової антиоксидантної системи.

За результатами експерименту продемонстровано, що атристамін активно використовує антиоксидантну систему глутатіону, тому на етапі утворення вторинних продуктів ПОЛ вміст ТБК-реактивів кількісно зменшується – у 3,1 рази ($p < 0,05$) відносно групи КП та у 3 рази ($p < 0,05$) порівняно з групою інтактного контролю (таблиця). Проте для відновлення антиоксидантів вітамінної природи (що здебільшого використовуються на етапі пригнічення ініціації ПОЛ) також потрібен глутатіон як субстрат для вітаміноспецифічних редуктаз. Враховуючи вищезазначені процеси, до всіх, з яких залучено використання GSH, його дефіцит виступає негативним кінетичним регулятором ензиматичних процесів, де він є субстратом, через що низка антиоксидантів, які перешкоджають утворенню ліпопероксидних радикалів, не відновлюється. Саме тому спостерігається збільшення вмісту ДК у групі атристаміну порівняно з показником групи КП у 2,4 рази ($p < 0,05$).

Відсутність достовірних відмінностей між показниками груп інтактного контролю та КП пояснюється тим, що на третю добу після ЧМТ легкого ступеня тяжкості вже відбулась їх певна нормалізація, яка не корелює з загальним станом тварин у поведінкових тестах [2] та даними морфологічних досліджень [3, 4], проведених саме у цей період після травми. Саме тому особливої цінності представлені результати дослідження впливу атристаміну на баланс ПОЛ-АОЗ набувають при зіставленні їх з результатами попередніх досліджень [2-4] – зниженням неврологічного дефіциту, покращенням загального стану тварин у поведінкових тестах та стабілізацією морфологічних показників у головному мозку, що не в останню чергу є наслідком інтенсифікації систем АОЗ під впливом досліджуваної речовини і призводить до певного їх виснаження та тимчасового накопичення небажаних інтермедіатів.

ВИСНОВКИ

Результати дослідження дають підставу констатувати, що атристамін швидше за все не чинить прямої антиоксидантної дії, проте активно залучає глутатіонову систему до антиоксидантного захисту головного мозку та переключає реалізацію антиоксидантних механізмів на утилізацію відновленого глутатіону з домінуючим впливом на запобігання утворенню вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів за рахунок активного використання ресурсів глутатіонової системи.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Role for mitochondrial reactive oxygen species in brain lipid sensing : redox regulation of food intake / A. Benani, S. Troy, M. C. Carmona et al. // *Diabetes*. – 2007. – Vol. 56, Iss. 1. – P. 152–160. <https://doi.org/10.2337/db06-0440>
2. Podolsky, I. M. Neuroprotective activity of 2-methyl-3-phenylaminomethylquinolin-4-one in experimental traumatic brain injury in rats / I. M. Podolsky, S. Yu. Shtrygol // *J. of Chemical and Pharmac. Res.* – 2015. – Vol. 7, Iss. 4. – P. 518–524.
3. Подольський, І. М. Експериментальне дослідження церебропротекторного впливу 2-метил-3-феніламінометилхінолін-4-ону на морфологічні порушення у структурах головного мозку щурів після черепно-мозкової травми / І. М. Подольський, С. Ю. Штриголь, Ю. Б. Лар'яновська // *Фармаком*. – 2015. – № 2. – С. 68–76.
4. Подольский, И. Н. Исследование церебропротекторного влияния 2-метил-3-фениламинотетрагидрохинолин-4-она на изменения тинкториальных свойств нейронов в головном мозге крыс после черепно-мозговой травмы / И. Н. Подольский, С. Ю. Штриголь // *Вестник фармации*. – 2015. – № 3 (69). – С. 86–91.
5. Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // *Official J. of the Eur. Communities*. – 2010. – L. 276. – P. 33–79.
6. Deacon, R. M. Housing, husbandry and handling of rodents for behavioral experiments / R. M. Deacon // *Nature Protocols*. – 2006. – Vol. 1, Iss. 2. – P. 936–946. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.120>
7. 3-Диметиламинометил-2-метил-1Н-хинолин-4-он – ефективний реагент в синтезі 3-амінометилзамещених хинолонов / В. А. Зубков, І. С. Гриценко, С. Г. Таран і др. // *Журн. органічної та фармац. хімії*. – 2005. – Т. 3, № 2 (10). – С. 23–27.
8. Наказ МОЗ України № 24 від 17.01.2005 р. «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Медицина невідкладних станів»» [Електронний ресурс]. – Режим доступу : http://old.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20050117_24.html
9. Шатілов, О. В. Експериментальне вивчення ноотропних та церебропротекторних властивостей похідних (2-оксоіндоліліден-3)-оцтової кислоти [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Шатілов Олександр Володимирович; Одес. нац. мед. ун-т. – Одеса, 2014. – 20 с.
10. Жилияев, С. О. Експериментальне обґрунтування використання препаратів кверцетину в різних лікарських формах при черепно-мозковій травмі [Текст] : автореф. дис. ... канд. фарм. наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Жилияев Станіслав Олександрович; Нац. фармац. ун-т. – Х., 2014. – 21 с.
11. Ельский, В. Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельский, С. В. Зяблицев. – Донецк : Новый мир, 2008. – 140 с.
12. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – 3-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2009. – 896 с.
13. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови / И. А. Волчегорский, А. Г. Налимов, Б. Г. Яровинский, Р. И. Лившиц // *Вопр. мед. химии*. – 1989. – Т. 35, № 1. – С. 127–131.
14. Стальная, И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Т. Гаришвили // *Современные методы в биохимии* / под ред. В. Н. Орехович. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.
15. Арутюнян, А. В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты организма / А. В. Арутюнян, Е. Е. Дубинина, Н. Н. Зыбин. – С-Пб. : Фолиант, 2000. – 104 с.
16. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванов, М. Г. Майорова, В. Е. Токарев // *Лаб. дело*. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
17. Прохорова, М. И. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / под ред. М. И. Прохоровой. – Л. : Изд-во Ленинград. ун-та. – 1982. – 272 с.
18. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М. : Медиасфера, 2006. – 312 с.
19. Diemel, G. A. Energy Metabolism in the Brain / G. A. Diemel // *From Molecules to Networks (3-rd ed.)* / Eds : J. H. Byrne, R. Heidelberger, M. N. Waxham. – NY : Academic Press, 2014. – P. 53–117. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397179-1.00003-8>
20. McCommis, K. S. Mitochondrial pyruvate transport : a historical perspective and future research directions / K. S. McCommis, B. N. Finck // *Biochem. J.* – 2015. – Vol. 466, Iss. 3. – P. 443–454. <https://doi.org/10.1042/BJ20141171>
21. Reactive oxygen species formation in the brain at different oxygen levels : the role of hypoxia inducible factors / R. Chen, U. H. Lai, L. Zhu et al. // *Front Cell Dev. Biol.* – 2018. – Vol. 6. – Article 132. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00132>

REFERENCES

1. Benani, A., Troy, S., Carmona, M. C., Fioramonti, X., Lorsignol, A., Leloup, C. ... Pénicaud, L. (2007). Role for mitochondrial reactive oxygen species in brain lipid sensing: redox regulation of food intake. *Diabetes*, 56 (1), 152–160. <https://doi.org/10.2337/db06-0440>
2. Podolsky, I. M., Shtrygol, S. Yu. (2015). Neuroprotective activity of 2-methyl-3-phenylaminomethylquinolin-4-one in experimental traumatic brain injury in rats. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7 (4), 518–524.
3. Podolsky, I. M., Shtrygol, S. Yu., Laryanovskaya, Yu. B. (2015). *Farmacom*, 2, 68–76.
4. Podolskiy, I. N., Shtrygol, S. Yu. (2015). *Vestnik farmatsii*, 3 (69), 86–91.
5. Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. (2010). *Official Journal of the European Communities*, L 276, 33–79.
6. Deacon, R. M. (2006). Housing, husbandry and handling of rodents for behavioral experiments. *Nature Protocols*, 1 (2), 936–946. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.120>
7. Zubkov, V. A., Gritcenko, I. S., Taran, S. G., Podolskii, I. N., Kamenetskaia, O. L. (2005). *Zhurnal orhanichnoi ta farmatsevtichnoi khimii*, 2 (10), 23–27.
8. Ministry of health of Ukraine. (2005). Nakaz № 24 "Pro zatverdzhennia protokoliv nadannia medychnoi dopomohy za spetsialnistiu "Medytsyna nevidkladnykh staniv"". Available at: http://old.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20050117_24.html
9. Shatilov, O. V. (2014). Eksperymentalne vyvchennia nootropnykh ta tsebroprotektornykh vlastyvoitei pokhidnykh (2-oksoindoliliden-3)-otstovoi kysloty. *Extended abstract of candidate's thesis*. Odeskiy natsionalnyi medychnyi universytet. Odessa, 20.
10. Zhyliayev, S. O. (2014). Eksperymentalne obgruntuvannia vykorystannia preparativ kvvertsetynu v riznykh likarskykh formakh pry cherepno-mozkovii travmi. *Extended abstract of candidate's thesis*. NFAU. Kharkiv, 21.
11. Elskii, V. N., Ziablitcev, S. V. (2008). *Modelirovanie cherepno-mozgovoi travmy*. Donetsk : Novyi mir, 140.
12. Kamyshnikov, V. S. (2009). *Spravochnik po kliniko-biokhimeskim issledovaniyam i laboratornoi diagnostike. (3-edition)*. Moscow : MEDpress-inform, 896.
13. Volchegorskii, I. A., Nalimov, A. G., Iarovinskii, B. G., Livshic, R. I. (1989). *Voprosy meditsinskoj khimii*, 35 (1), 127–131.
14. Stalnaya, I. D., Garishvili, T. T. (1977). *Sovremennyye metody v biokhime*. Moscow : Meditsina, 66–68.
15. Arutyunyan, A. V., Dubinina, E. E., Zybin, N. N. (2000). *Metody otsenki svobodnoradikalnogo okisleniya i antioksidantnoy zashchity organizma*. St-Petersburg: Foliant, 104.
16. Korolyuk, M. A., Ivanov, L. I., Mayorova, M. G., Tokarev, V. E. (1988). *Laboratornoye delo*, 1, 16–19.
17. Prohorova, M. I. (Ed.). (1982). *Metody biokhimeskih issledovaniy (lipidnyy i jenergeticheskij obmen)*. Leningrad: Izdatelstvo Leningradskogo universiteta, 272.

18. Rebrova, O. Yu. (2006). *Statisticheskij analiz meditsinskikh dannykh. Primeneniye paketa prikladnykh programm STATISTISA*. Moscow: Mediasfera, 312.
19. Diemel, G. A. (2014). *Energy Metabolism in the Brain. From Molecules to Networks*, 53–117. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397179-1.00003-8>
20. McCommis, K. S., & Finck, B. N. (2015). Mitochondrial pyruvate transport: a historical perspective and future research directions. *Biochemical Journal*, 466 (3), 443–454. <https://doi.org/10.1042/BJ20141171>
21. Chen, R., Lai, U. H., Zhu, L., Singh, A., Ahmed, M., & Forsyth, N. R. (2018). Reactive Oxygen Species Formation in the Brain at Different Oxygen Levels: The Role of Hypoxia Inducible Factors. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 6, 132. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00132>

Відомості про авторів:

Подольський І. М., канд. фармацевт. наук, доцент кафедри медичної хімії, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: illya.podolsky@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2368-7170>

Литкін Д. В., завідувач Центральної науково-дослідної лабораторії, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: d.v.lytkin@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4173-3046>

Штриголь С. Ю., д-р мед. наук, професор, завідувач кафедри фармакології, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: shtrygol@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7257-9048>

Цивунін В. В., канд. фармацевт. наук, асистент кафедри фармакології, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: tsyvunin-vad@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2980-5035>

Information about authors:

Podolsky I., Ph.D in Pharmacy, associate professor of the Medicinal Chemistry Department, National University of Pharmacy.

E-mail: illya.podolsky@nuph.edu.ua, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2368-7170>

Lytkin D., head of the Central Research Laboratory, National University of Pharmacy. E-mail: d.v.lytkin@gmail.com,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4173-3046>

Shtrygol' S., Doctor of Sciences in Medicine, Professor, Head of the Department of Pharmacology, National University of Pharmacy.

E-mail: shtrygol@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7257-9048>

Tsyvunin V., Ph.D in Pharmacy, assistant of the Department of Pharmacology, National University of Pharmacy.

E-mail: tsyvunin-vad@ukr.net, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2980-5035>

Сведения об авторах:

Подольский И. Н., канд. фармацевт. наук, доцент кафедры медицинской химии, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: illya.podolsky@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2368-7170>

Лыткин Д. В., заведующий Центральной научно-исследовательской лабораторией, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: d.v.lytkin@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4173-3046>

Штриголь С. Ю., д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: shtrygol@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7257-9048>

Цивунин В. В., канд. фармацевт. наук, ассистент кафедры фармакологии, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: tsyvunin-vad@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2980-5035>

Надійшла до редакції 25.09.2019 р.