

ОЦІНКА ВПЛИВУ СУМАРНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛОДІВ РОЗТОРОПШІ ПЛЯМИСТОЇ НА АКТИВНІСТЬ ГЛЮКОЗНОЇ ТРАНСПОРТНОЇ СИСТЕМИ У ХРОНІЧНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ *IN VIVO* НА ФУНКЦІОНУЮЧІЙ ДІЛЯНЦІ ТОНКОЇ КИШКИ ЩУРІВ

Метою роботи стало вивчення впливу сумарного екстракту плодів розторопші, що містить як водо-, так і жиророзчинні компоненти, на транспорт глюкози у функціонуючій ділянці кишки, яка зберігає іннервацію, водопостачання і пасаж хімуса, у хронічному експерименті *in vivo* за відсутності операційної травми, наркозу і стресу.

Показано вірогідне гальмування транспорту глюкози у функціонуючій ділянці кишки на 40 % у присутності сумарного екстракту розторопші. Отримані дані можуть бути використані при розробці методів лікування пацієнтів з метаболічними хворобами для поліпшення їх глікемічного стану.

Ключові слова: розторопша, транспорт глюкози, функціонуюча ділянка тонкої кишки.

ESTIMATION OF THE EFFECT OF MILK THISTLE FRUITS SUMMARY EXTRACT ON THE ACTIVITY OF GLUCOSE TRANSPORT SYSTEME IN THE CHRONIC EXPERIMENT *IN VIVO* ON THE FUNCTIONING FRAGMENT OF THE RATS' SMALL INTESTINE

The goal was to investigate the effects of the milk thistle fruits summary extract on the glucose transport in the functioning fragment of the small intestine, which has normal innervation, blood circulation and passage of chyme in the chronic experiment *in vivo* under the absence of the narcosis, trauma and stress.

The reliable inhibition of glucose transport in the functioning part of the small intestine by 40% in the presence of the milk thistle fruits summary extract is shown. These data can be used for the development of methods of treatment for the patients with metabolic diseases for the improvement of their glycemic state.

Key words: milk thistle fruits, glucose transport, functioning fragment of small intestine.

УДК 616.13-018.74

О. О. Тарабрін, *д-р мед. наук, проф.*,

О. В. Петелкакі,

С. С. Щербаков,

Д. Г. Гавріченко

ВПЛИВ ПОЄДНАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ L-АРГІНІНУ ТА ПЕНТОКСИФІЛІНУ НА ПРОЯВИ МОДЕЛЬОВАНОГО СУБАРАХНОЇДАЛЬНОГО КРОВОВИЛИВУ У ЩУРІВ

Одеський національний медичний університет

Субарахноідальний крововилив (САК) — тяжке захворювання, яке супроводжується різними неврологічними розладами та значною летальністю. Так, летальний кінець спостерігається у близько 50 % хворих, а у 30 % хворих, що одужали, наявні тяжкі дефекти нервової системи. Багато експериментальних і клінічних свідчень указують на значення окиснювального стресу в механізмах формування гострого ушкодження тканини головного мозку, а також у виникненні та розвитку церебрального вазоспазму як патогенетичних елементів формування наслідків САК [1; 2; 6]. Джерелами утворення вільних радикалів є надмірне їх надходження в результаті порушення мітохондріального дихального ланцюжка, а також

позаклітинний гемоглобін [6]. Експериментальні дослідження свідчать про зв'язок продукції вільних радикалів та апоптозу нейронів, а також ендотеліальних клітин, підвищення проникності гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) і змін реактивності судин по відношенню до судинозвужувальних факторів за умов моделювання САК. Доцільним є вивчення одночасного коригуючого впливу на функцію ендотеліоцитів і продукцію прозапальних цитокінів, що до останнього часу не проводилося.

Мета цього дослідження — вивчення особливостей перебігу експериментальної моделі САК у щурів за умов застосування L-аргініну, який стимулює продукцію оксиду азоту, та пентоксифіліну (ПТФ), що знижує продукцію прозапаль-

них цитокінів і має антиоксидантні властивості [8].

Матеріали та методи дослідження

Експерименти проведені за умов гострого досліду на щурах-самцях лінії Вістар масою 180–250 г. Під кетаміновим наркозом (100,0 мг/кг, в/чер) відтворювали модель САК — стереотаксично вводили автокров у тім'яно-скроневу зону обох півкуль (150 мкл) за координатами (AP = 2,7; L = 3,5; H = 5,7) [7], а після завершення мікроін'єкцій і герметизації отворів у черепі у велику цистерну мозку вводили 0,3 мл автокрові [10].

На шосту годину від моменту введення автокрові щурів спостерігали на відкритій площадці, визначаючи кількість тварин, які зберігали верти-

**Динаміка порушень пози та летальності щурів
за різних умов фармакологічної корекції
проявів субарахноїдального крововиливу**

Група тварин	Кількість щурів	Час від моменту відтворення САК, год				
		6	12	24	48	72
Контроль	15	9/1	7/3	5/6	4/7	3/11
L-аргінін + ПТФ (200,0 мг/кг + 25,0 мг/кг)	12	11*/0*	10*/1*	7*/2*	6*/5	6*/5*
L-аргінін (500 мг/кг, в/чер)	10	6/2*	5/3	3/4	2/6	2/7
L-аргінін (200 мг/кг, в/чер)	9	7*/1	5/1*	4/3	2/4	1/5*
ПТФ (25,0 мг/кг)	10	6/1	5/2	4/3	3/4	1/6
ПТФ (50,0 мг/кг)	10	7/1	6*/2	4/4	4/5	2/7

Примітка. Чисельник — кількість тварин, які зберігають вертикальне положення тіла; знаменник — кількість тварин, які загинули; * — $P < 0,05$ (Kruskal–Wallis).

кальну позу, їхню больову чутливість, тривалість утримування незручного положення на спині чи боці, а також летальність. Больові реакції у тварин вимірювали кількісно за чотирибальною шкалою в пробі стиснення кінчика хвоста корнцангом [5]: 0 балів — без реакції; 1 бал — у відповідь на подразник виникає вокалізація та/чи короткочасна локомоція; 2 бали — тварина повертається в бік дії подразника; 3 бали — тварина локалізує джерело болю, накидається на корнцанг, намагається звільнитися.

L-аргінін застосовували дозами 200 та 500 мг/кг, в/чер, ПТФ — 25,0 та 50,0 мг/кг (препарати фірми “Sigma-Aldrich”, Німеччина).

Через 24 год від моменту відтворення САК здійснювали евтаназію тварин, а мозок перфузували фізіологічним розчином, після чого перфузію проводили за допомогою розчину формальдегіду (4,0 %). Тканину мозку фіксували в 4,0%-му розчині формальдегіду протягом трьох діб. Зрізи тканини мозку забарвлювали за допомогою гематоксиліну й еозину.

Щурам контрольної групи внутрішньочеревинно застосовували 0,9%-й фізіологічний розчин NaCl.

Результати досліджень обробляли статистично за допомогою загальноприйнятих у медико-біологічних дослідженнях критеріїв.

Результати дослідження та їх обговорення

Через 6,0 год від моменту відтворення проявів САК виникали порушення пози у 5 (33,3 %) щурів, у 1 (6,7 %) щура спостерігався летальний кінець (таблиця). Через 12,0 год втрата вертикального положення фіксувалася у 5 (33,3 %) щурів, а летальний кінець — у 20,0 % тварин. Через одну добу вертикальне положення зберігалось у 33,3 % щурів, тоді як летальність була 40,0 % (див. таблицю). Подальша динаміка пов'язана зі зменшенням кількості тварин, які утримували вертикальне положен-

ня, та зростанням показника летальності: наприкінці спостереження (3 доби від моменту відтворення САК) у вертикальному положенні знаходилися 20,0 % щурів, а летальність становила 73,3 % (див. таблицю).

Відтворення САК за умов застосування ПТФ різними дозами (25,0 та 50,0 мг/кг, в/чер) засвідчило, що через 6 год від моменту виникнення САК вертикальне положення утримували відповідно 60 і 70 % експериментальних тварин, а летальність у групах дорівнювала 10,0 %, що не відрізнялося від показників групи контролю ($P > 0,05$) (див. таблицю). Через 12 год у групі із застосуванням ПТФ вертикальне положення зберігалось у вірогідно більшої кількості експериментальних тварин (60,0 %, $P < 0,05$). Через 1 добу від моменту відтворення САК вертикальне положення щурів у обох групах зберігалось у 40,0 %, тоді як летальність становила відповідно 30,0 і 40,0 % ($P > 0,05$) (див. таблицю). Через 3 доби від моменту відтворення САК вертикальна поза у щурів із застосуванням ПТФ дозами 25,0 та 50,0 мг/кг зберігалася відповідно у 1 та 2 щурів (10,0 та 20,0 %), а летальність дорівнювала відповідно 60,0 і 70,0 % тварин ($P > 0,05$) (див. таблицю).

На фоні застосування L-аргініну дозою 200,0 мг/кг через

6 год від моменту відтворення САК вертикальне положення зберігали 77,8 % експериментальних тварин ($P < 0,05$), а летальність була 11,1 % ($P > 0,05$) (див. таблицю). Через 12 год у групі летальність становила 11,1 %, тобто була вірогідно меншою від такої у групі контролю ($P < 0,05$). Через 24 год відповідні показники дорівнювали 44,4 і 33,3 % ($P > 0,05$) (див. таблицю). Наприкінці спостереження (72 год від моменту виникнення САК) летальність становила 55,6 %, що було менше, ніж у групі контролю ($P < 0,05$) (див. таблицю). Застосування L-аргініну більшою дозою (500,0 мг/кг, в/чер) супроводжувалося порушенням пози тварин у термін 6 год від моменту індукції САК у 20,0 %, а летальний кінець — у 20,0 % тварин, що було більше, ніж у групі контролю ($P < 0,05$). Через 24 год відповідні показники дорівнювали 30,0 % ($P > 0,05$). Через 3 доби від моменту відтворення САК летальність у групі становила 70,0 % ($P > 0,05$) (див. таблицю).

Відтворення САК за умов застосування L-аргініну та ПТФ нижчими досліджуваними дозами (200,0 та 25,0 мг/кг) супроводжувалося виникненням порушень вертикального положення у 2 (16,7 %) тварин за відсутності летального кінця ($P < 0,05$), що було менше порівняно з відповідними показ-

никами у групі контролю (див. таблицю). Подібні вірогідні відмінності між групами за досліджуваними показниками зберігалися до кінця спостереження за винятком дводобового терміну, коли показники летальності між групами не відрізнялися ($P>0,05$) (див. таблицю).

У щурів із модельованим САК через 6 год виразність больових реакцій була значно зниженою. Так, у цей термін щури не могли локалізувати джерело больових відчуттів і реагували вокалізацією та незначними локомоторними актами у відповідь на защемлення кінчика хвоста корнцангом (0–1 бал). У групі щурів, яким застосовували ПТФ дозою 25,0 мг/кг, середня виразність больових реакцій була вищою від такої в групі щурів із САК на 37,3 % ($P<0,05$) (рис. 1). За цих умов у відповідь на защемлення корнцангом кінчика хвоста щури демонстрували здатність повертання у бік защемлення, але не могли локалізувати джерело болю. На фоні введення L-аргініну (100,0 мг/кг, в/чер) середня виразність больових реакцій у щурів перевищувала таку в групі контролю на 52,4 % ($P<0,05$). За цих умов 4 із 11 щурів були здатні чітко локалізувати джерело болю. За умови одночасного застосування препаратів тими самими дозами більшість (7 із 12) експериментальних тварин і САК локалізували джерело болю, активно намагалися звільнити кінчик хвоста, виразність больових реакцій становила ($2,6 \pm 0,4$) бала і була в 3,27 рази більшою від такої в групі контролю ($P<0,05$) (див. рис. 1).

Через 24 год від моменту відтворення САК у 4 із 9 щурів больові реакції були відсутні, у решти щурів у відповідь на защемлення хвоста спостерігалася вокалізація та незначні локомоції. Середня тяжкість больових реакцій була ($0,55 \pm 0,20$) бала, що на 31,2 % менше, ніж у щурів через 6 год від моменту відтворення САК ($P<0,05$). Самостійне застосування L-аргініну (100,0 мг/кг) та ПТФ (25,0 мг/кг) не зміню-

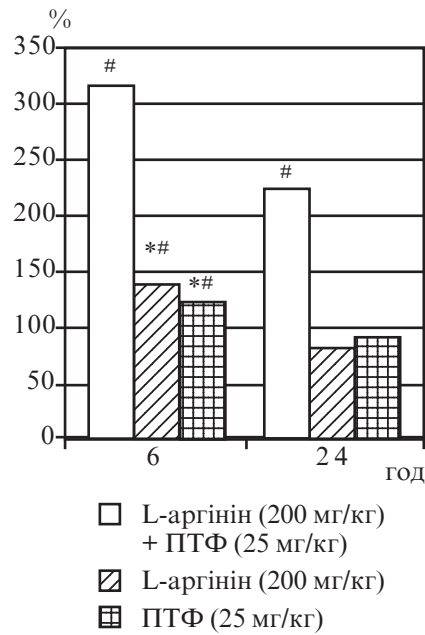


Рис. 1. Динаміка больової чутливості щурів із САК за умов застосування L-аргініну та пентоксифіліну: за віссю абсцис — час від моменту відтворення моделі САК; за віссю ординат — досліджувані показники у процентах по відношенню до таких у групі контролю (щури із САК за відсутності лікування), прийняті за 100 %; # — $P<0,05$ порівняно з групою контролю; * — $P<0,05$ порівняно з групою щурів із поєднаним застосуванням препаратів (ANOVA + Newman-Keuls тест)

вало виразності больових реакцій, тоді як при комбінованому застосуванні препаратів 7 із 9 щурів демонстрували здатність повертатися у бік знаходження больового чинника, середня виразність больових реакцій була в 1,85 рази вищою, ніж у групі контролю ($P<0,05$) (див. рис. 1).

Гістологічні дослідження засвідчили, що через 24 год від моменту відтворення САК середній діаметр базиліарних артерій мозку в групі контролю (хибно відтворений САК) становив ($145,2 \pm 3,3$) мкм; у групі з відтворенням САК — ($78,2 \pm 2,3$) мкм, а в групі із САК та застосованим лікуванням — ($121,0 \pm 3,1$) мкм відповідно. За цих умов товщина стінки артерії в групах дорівнювала відповідно ($11,5 \pm 0,8$), ($16,7 \pm 1,2$) та ($13,3 \pm 0,6$) мкм (рис. 2).

Таким чином, отримані результати свідчать, що за умо-

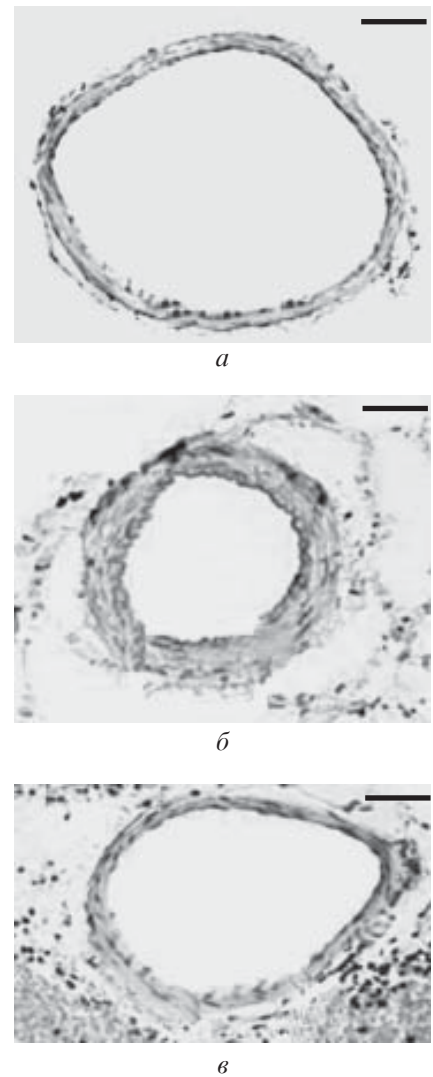


Рис. 2. Морфологічні особливості базиліарних артерій у щурів із модельованим САК: а — інтактна тварина із внутрішньоцистернальним і внутрішньомозковим застосуванням фізіологічного розчину NaCl; б — 24 год від моменту моделювання САК; в — 24 год від моменту моделювання САК і застосування L-аргініну (200,0 мг/кг, в/чер) та ПТФ (25,0 мг/кг, в/чер). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Горизонтальна риска у правому верхньому куті — 20 мкм.

ви поєднаного застосування ПТФ і L-аргініну спостерігається потенційований коригуючий ефект щодо порушень, спричинених субарахноїдальним виливом крові. Причому, зважаючи на роль гуморальних факторів — похідних компонентів крові, комбіноване застосування препаратів зменшувало як поведінкові порушення, летальність тварин, від-

новлювало больову чутливість, так і запобігало проявам вазоспазму, який є неодмінним патогенетичним елементом виникнення САК [3; 4].

Отримані нами результати збігаються з результатами інших авторів, зокрема [3], які використовували аргінін із розрахунку 500 мг/кг і довели значене зменшення пошкодження нейронів за умов моделювання САК у щурів. Заслужує на увагу факт потенціювання впливу аргініну за рахунок застосування ПТФ — препарату, здатного викликати антиоксидантні ефекти, покращувати реологічні властивості крові, а також знижувати рівень прозапальних цитокінів у тканинах [10]. Останнє, на наш погляд, може мати вирішальне значення у формуванні потенційованого позитивного терапевтичного впливу щодо ефектів аргініну, оскільки прозапальні цитокіни відіграють важливу патогенетичну роль при САК [9]. Можлива також роль антиоксидантних впливів ПТФ, оскільки подібні механізми розглядаються як важливі при здійсненні терапевтичного впливу мелатоніну при експериментальному відтворенні САК [4]. Крім того, антиоксидантні — як прямі, так і опосередковані за рахунок зниження вивільнення прозапальних цитокінів — ефекти ПТФ також можуть зменшувати ризик впливу вільних радикалів, які утворюють-

ся за рахунок надмірної активності індубельної синтази оксиду азоту, що відбувається за умов відтворення САК [1].

Висновки

1. Застосування L-аргініну та ПТФ дозозалежним чином запобігає порушенням поведінки та виникненню летального кінця у щурів із модельованим САК. Протективні ефекти мають тимчасовий характер і спостерігаються переважно в терміни 6–12 год від моменту відтворення моделі захворювання.

2. Поєднане застосування L-аргініну та ПТФ викликає потенційований протективний ефект щодо САК-індукованих порушень поведінки, больової чутливості та летальності тварин, запобігає формуванню вазоспазму. Позитивний вплив поєднаного застосування препаратів спостерігається протягом 72 год від моменту їх застосування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Завгородняя А. Н. Эндотелиальные механизмы патогенеза цереброваскулярной патологии / А. Н. Завгородняя, В. А. Малахов // Украинский медицинский часопис. — 2006. — № 2 (52). — С. 32–39.
2. Дисфункции эндотелия. Патогенетическое значение и методы коррекции / под ред. Н. Н. Петрищева. — СПб. : ИИЦ ВМА, 2007. — 296 с.
3. L-arginine improves cerebral blood perfusion and vasomotion of microvessels following subarachnoid hemorrhage in rats / B. Sun, S. Zhang,

Z. Xia [et al.] // Clinical Hemorheology and Microcirculation. — 2003. — Vol. 29, N 3–4. — P. 391–400.

4. Melatonin ameliorates cerebral vasospasm after experimental subarachnoidal haemorrhage correcting imbalance of nitric oxide levels in rats / M. A. Aladag, Y. Turkoz, H. Parlakpinar [et al.] // Neurochem. Res. — 2009. — Vol. 39, N 11. — P. 1935–1944.

5. Myslobodsky M. Convulsant specific architecture of the postictal behaviour syndrome in the rats / M. Myslobodsky, O. Kofman, M. Mintz // Epilepsia. — 1981. — Vol. 22, N 5. — P. 559–568.

6. Ayer R. E. Oxidative stress in subarachnoid haemorrhage: significance in acute brain injury and vasospasm / R. E. Ayer, J. H. Zhang // Acta Neurochirurgia Supplementum. — 2008. — Vol. 104. — P. 33–41.

7. Paxinos G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, C. Watson. — Sydney : Academic Press Inc., 1998.

8. Pentoxifylline and propentofylline are inhibitors of TNF-alpha release in monocytes activated by advanced glycation endproducts / I. Meiners, S. Hauschildt, K. Nieber, G. Munch // J. Neural. Transm. — 2004. — Vol. 111, N 3. — P. 441–447.

9. Role of interleukin-1 β in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in mice / T. Sozen, R. Tsuchiama, Y. Hasegawa [et al.] // Stroke. — 2009. — Vol. 40. — P. 2519–2525.

10. The effects of resveratrol on vasospasm after experimental subarachnoidal hemorrhage in rats / A. Karagöglan, O. Akdemir, S. Barut [et al.] // Surg. Neurol. — 2008. — Vol. 70, N 4. — P. 337–343.

УДК 616.13-018.74

О. О. Тарабрін, О. В. Петелкакі, С. С. Щербаков, Д. Г. Гавриченко

ВПЛИВ ПОЄДНАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ L-АРГІНІНУ ТА ПЕНТОКСИФІЛІНУ НА ПРОЯВИ МОДЕЛЬОВАНОГО СУБАРАХНОЇДАЛЬНОГО КРОВОВИЛИВУ У ЩУРІВ

На моделі субарахноїдальної кровотечі (САК), яку було відтворено внутрішньомозковим і внутрішньоцистеральним застосуванням автокрові у щурів, встановлено, що поєднане використання L-аргініну (200,0 мг/кг) та ПТФ (25,0 мг/кг) викликає потенційований протективний ефект щодо САК-індукованих порушень поведінки, больової чутливості та летальності тварин, запобігає формуванню вазоспазму. Позитивний вплив поєднаного застосування препаратів спостерігається протягом 72 год від моменту їх застосування.

Ключові слова: субарахноїдальний крововилив, L-аргінін, оксид азоту, пентоксифілін.

UDC 616.13-018.74

О. О. Tarabrin, O. V. Petelkaki, S. S. Shcherbakov, D. G. Gavrichenko

THE INFLUENCE OF L-ARGININ AND PENTOXYPHYLLIN ON MODELLED SUBARACHNOIDAL BLEEDING IN RATS

It was established that combined administration of L-arginin (200.0 mg/kg, i. p.) and pentoxifyllin (PTPh) (25.0 mg/kg, i. p.) exerted potentiated protective effect upon behavioral disturbances, pain perception deteriorations and lethality as well as upon vasospasm on the model of subarachnoidal bleeding (SAB), which was induced via intracerebral and intracisternal administration of autoblood in rats. Positive therapeutic effect of combined usage of drugs was observed during 72 h from the moment of their administration.

Key words: subarachnoidal bleeding, L-arginin, nitrogen oxide, pentoxifyllin.