

*О. В. Багаурі*

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА ВПЛИВУ ПОХІДНОГО 3,2'-СПИРО-ПІРРОЛО-2-ОКСИНДОЛУ (СПОЛУКА R-86) НА ДИНАМІКУ ПРОЦЕСІВ НЕЙРОДЕСТРУКЦІЇ ПРИ ГОСТРІЙ ЦЕРЕБРАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ**

*О. В. Багаурі*

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРОИЗВОДНОГО 3,2'-СПИРО-ПИРРОЛО-2-ОКСИНДОЛА (СОЕДИНЕНИЕ R-86) НА ДИНАМИКУ ПРОЦЕССОВ НЕЙРОДЕСТРУКЦИИ ПРИ ОСТРОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ**

*O. V. Bagauri*

**INFLUENCE OF DERIVATE OF 3,2'-SPIRO-PYRROLO-2-OXINDOLE (COMPOUND R-86) AT DYNAMIC OF THE NEURODESTRUCTIVE PROCESSES BY ACUTE CEREBRAL ISCHEMIA**

У досліджах на щурах із модельним гострим порушенням мозкового кровообігу (білатеральна каротидна оклюзія) встановлено, що введення похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу (сполука R-86) у дозі 10 мг/кг внутрішньошлунково в лікувальному режимі (через 1 годину після відтворення інсульту та далі через кожні 24 год упродовж 21 доби) ефективніше за внутрішньоочеревинне введення цитиколіну (250 мг/кг), зменшує активність нейронспецифічної енолази, що свідчить про послаблення досліджуваними речовинами нейродеструктивних змін в головному мозку тварин. Отримані дані експериментально обґрунтовують доцільність подальшого дослідження механізмів цитопротекторної дії похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу в умовах гострої церебральної ішемії, що може стати підґрунтям для створення на основі цієї речовини вітчизняного церебропротекторного засобу.

**Ключові слова:** похідні 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу, ішемічний інсульт, нейронспецифічна енолаза, церебропротекція

В опытах на крысах с модельным острым нарушением мозгового кровообращения (билатеральная каротидная окклюзия) установлено, что введение производного 3,2'-спиро-пирроло-2-оксіндола (соединение R-86) в дозе 10 мг/кг внутривентрикулярно в лечебном режиме (через 1 час после моделирования инсульта и далее один раз в сутки через каждые 24 ч в течение 21 дня) эффективнее по сравнению с внутрибрюшинным введением цитиколина (250 мг/кг) способствует уменьшению активности нейронспецифической енолазы, что свидетельствует об ослаблении на фоне терапии исследуемыми веществами нейродеструктивных изменений в головном мозге животных. Полученные данные экспериментально обосновывают целесообразность дальнейшего исследования механизмов цитопротекторного действия производного 3,2'-спиро-пирроло-2-оксіндола (соединение R-86), что, в дальнейшем может стать основой для создания нового отечественного церебропротектора.

**Ключевые слова:** производные 3,2'-спиро-пирроло-2-оксіндола, ишемический инсульт, нейронспецифическая енолаза, церебропротекция

In experiments on rats with model of acute disorder of encephalic circulation (20 minutes bilateral carotid occlusion with further reperfusion) were established that introduction of derivate of derivate of 3,2'-spiro-pyrrolo-2-oxindole (compound R-86) in dose 10 mg/kg in the treatment mode (in an hour after modeling of insult and further one time a day after every 24 hours during 21 days) comparing with intraperitoneal introduction of the citikoline (250 mg/kg) efficiently reduces activity of the neuron specific enolase which indicates weakening of the neurodestructive changes in the brain during therapy with investigated substances. Obtained data experimentally prove expediency of further investigation of the mechanisms of the cytoprotector action of derivate of 3,2'-spiro-pyrrolo-2-oxindole (compound R-86) and further can become the basis for development of new domestic cerebroprotector.

**Keywords:** derivate of 3,2'-spiro-pyrrolo-2-oxindole, ischemic insult, neuron specific enolase, cerebroprotection

Розвиток сучасної концепції потенційної зворотності наслідків гострої церебральної ішемії обґрунтовує необхідність інтенсивної церебропротективної терапії вже на ранніх етапах розвитку церебральної ішемії [3, 12]. Однак, ефективність багатьох цитопротекторів в умовах гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК) є сумнівною та недостатньою [8]. Застосування значної кількості препаратів (поліпрагмазія) призводить до підвищення ризику їх небажаної взаємодії та збільшення кількості побічних ефектів. Природною альтернативою поліпрагмазії є створення та використання лікарських засобів із політропними фармакологічними ефектами, які гармонійно зіставляються з патогенезом церебральної ішемії [9]. Оптимальним вирішенням проблеми поліпрагмазії у даному випадку, на нашу думку, є створення препарату, який би поєднував у собі низку фармакологічних ефектів, кожен з яких доповнював би один одного. Саме тому актуальним завданням сучасної фармакологічної неврології є пошук біологічно активних речовин із цитопротекторною дією на ішемізований головний мозок.

У цьому аспекті нашу увагу привернули похідні 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу, котрі за структурою молекули є біоізостерними рослинними алкалоїдами 3,3'-спіро-піролідин-2-оксіндолного ряду та мають високий потенціал фармакологічної активності. Крім того, раніше серед деяких нових речовин ряду спіро-пірано-2-оксіндолу, які були синтезовані під керівництвом канд. фарм. наук, старшого наукового співробітника Інституту проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України — Редькіна Р. Г., нами вже було знайдено сполуки з вираженими антигіпоксантичними властивостями. Зокрема, превентивне введення щурам одного із оригінальних похідних 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу сполуки R-86, сприяло вірогідному збільшенню стійкості тварин на моделі гострої нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією, що свідчить про наявність у цієї речовини антигіпоксичної активності [1]. Подальше вивчення її протиішемічних властивостей показало, що ця сполука має церебропротекторну дію в умовах гострої церебральної ішемії. На користь такого твердження вказувала, по-перше, її здатність зменшувати летальність та неврологічний дефіцит у щурів в гострому

та відновному періодах модельного ішемічного інсульту, а по-друге — її введення сприяло покращанню мнестичних функцій у піддослідних тварин. Слід відмітити, що за величиною церебропротекторної дії похідне 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу вірогідно перевершувало цитиколін, актовегін та пірацетам.

Для більш ґрунтовного з'ясування ступеня захисної дії на головний мозок при гострому порушенні мозкового кровообігу становило інтерес оцінити вплив курсової терапії похідним 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу (сполука R-86) на інтенсивність перебігу деструктивних змін в мембранах нейронів за динамікою активності нейронспецифічної енолази (NSE), яка є раннім маркером пошкодження нервової тканини. NSE міститься переважно в нейронах та нейроендокринних клітинах. При неврологічних захворюваннях, у тому числі при ГПМК, відмічається вихід нейронспецифічних ензимів та їх ізоферментів із пошкоджених нейронів, що дозволяє дослідити глибину та інтенсивність структурно-функціональних порушень біомембран у ЦНС на ранніх етапах [6, 7].

Мета даної роботи — дати порівняльну оцінку ефективності похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу сполуки R-86 та цитиколіну у різні періоди ішемічного інсульту за інтенсивністю перебігу нейродеструктивних процесів.

Нейропротективну дію похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу (сполука R-86) та цитиколіну вивчали на моделі ГПМК за ішемічним типом у передньомозковому басейні шляхом створення білатеральної каротидної оклюзії (БКО) за рахунок перев'язки каротидних артерій. Лігатури на загальні сонні артерії накладали під пропофоловим наркозом у дозі 60 мг/кг внутрішньоочеревинно (в/о), використовуючи хірургічний доступ на передній поверхні шиї розрізом через її білу лінію. Обрана модель дозволяє відтворити клінічну картину ішемічного інсульту і є адекватною для клінічного вивчення потенційних нейропротекторних речовин [2].

Керуючись останніми рекомендаціями щодо ведення хворих з ішемічним інсультом та транзиторними ішемічними атаками, розробленими комітетом Європейської інсультної організації [8], яка ґрунтується на всебічному аналізі усіх отриманих даних щодо ефективності того чи іншого засобу розглядає можливість включення цитиколіну в стратегію нейропротекторної терапії, свій вибір препарату порівняння ми зупинили саме на ньому. Незважаючи на те, що навколо цього церебропротектора останнім часом точаться чисельні дискусії стосовно його ефективності в умовах гострої церебральної ішемії [14], остаточного рішення стосовно подальшої долі й місця цього лікарського засобу у терапії ГПМК ESO ще виніс. Крім того, численні клінічні дані свідчать про здатність цитиколіну за рахунок цитопротекторних властивостей позитивно впливати на регрес неврологічного дефіциту та покращувати когнітивно-мнестичні функцій у хворих із гострою церебральною ішемією, що також вплинуло на наш вибір [4, 13]. Відповідно до останніх клінічних настанов стосовно лікування хворих з ГПМК, схвалених Міністерством охорони здоров'я України (наказ № 602 від 03.08.2012), цитиколін є нейропротектором вибору із достатньої доказовою базою.

Експериментальну терапію гострої церебральної ішемії сполукою R-86 та цитиколіном («Сомазіна» Ferrer Snternational S. A., Іспанія) розпочинали через 1 год після БКО, а далі — один раз на день упродовж 21 доби.

Похідне 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу досліджували в умовно-ефективній дозі 10 мг/кг внутрішньошлунково (в/ш) — доза, яка за результатами наших попередніх досліджень забезпечує максимальну антигіпоксичну активність сполуки R-86. Референс-препарати вводили внутрішньоочеревинно. У наших дослідженнях цитиколін в умовах експериментального ГПМК вводили в/о в рекомендованій для доклінічних досліджень дозі 250 мг/кг [11]. Щурам групи контрольної патології виводили БКО та як терапію вводили 0,9 % розчин NaCl із розрахунку 2 мл/кг в/о.

Псевдооперованих щурів піддавали всім втручанням (наркоз, розріз шкіри, препарування судин) за виключенням перев'язування артерій, що нівелювало вплив травматичних умов експерименту.

Для визначення специфічного маркера ішемії головного мозку нейронспецифічної енолази — у відповідні строки (4-та та 21-ша доба ГПМК) у щурів, шляхом пункції сагітального синусу, брали проби крові (0,2—0,4 мл). Активність NSE вимірювали методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням набору NSE ELISA KIT (DAI, США) на приладі фірми «Hirson» (Чехія) [10].

Дотримання етичних норм підтверджено Комісією з біоетики ВНМУ ім. М. І. Пирогова. Будь-які травматичні маніпуляції та евтаназію тварин шляхом декапітації виконували в умовах пропофолового наркозу («Fresenius Kabi», Австрія).

Кількісні дані обробляли за допомогою програми статистичної обробки StatPlus 2009. Використовували параметричний критерій *t* Стьюдента у випадках нормального розподілу варіаційного ряду, непараметричний критерій *W* Уайта — за його відсутності.

Аналіз динаміки активності досліджуваного маркера у щурів в умовах БКО показав, що через 96 год (4-та доба) після моделювання патології його рівень вірогідно підвищився відносно аналогічного показника у псевдооперованих тварин у 10,5 рази, при цьому в кінці спостереження (21-ша доба) активність NSE продовжувала залишатись підвищеною майже у 7,1 рази (табл.).

**Вплив курсового введення щурам із гострою церебральною ішемією сполуки R-86 та цитиколіну на динаміку нейродеструктивних змін ( $M \pm m, n = 7$ )**

Групи тварин	Термін, доба	
	4-та	21-ша
Псевдооперовані тварини + 2 мл/кг 0,9 % NaCl, в/о	0,118 ± 0,001	0,110 ± 0,005
Контрольна патологія БКО + 2 мл/кг 0,9 % NaCl, в/о	1,238 ± 0,059*	0,784 ± 0,033*
БКО + R-86 (10 мг/кг, в/ш)	0,61 ± 0,004*# <sup>0</sup>	0,204 ± 0,015*# <sup>0</sup>
БКО + цитиколін (250 мг/кг, в/о)	0,972 ± 0,010*#	0,385 ± 0,010*#

Примітки: \* —  $p < 0,05$  відносно показника псевдооперованих щурів; # —  $p < 0,05$  відносно показника контрольної патології; <sup>0</sup> —  $p < 0,05$  відносно показника групи цитиколіну

Отримані нами результати стосовно коливань активності енолази у різні періоди інсульту збігаються із літературними даними [6, 7]. Так, на думку дослідників, значне підвищення NSE в гострий період церебральної ішемії

відбувається переважно за рахунок деструкції нейронів внаслідок безпосереднього впливу ішемічного чинника на внутрішньоклітинний метаболізм. У більш пізній період ГПМК, коли активуються адаптивні та репаративні процеси, активність енолази поступово зменшується, однак не знижується до нормальних цифр.

Подібна негативна динаміка активності NSE в умовах ГПМК свідчить не тільки про значну величину вогнища ішемії, а й дозволяє з певною вірогідністю передбачити несприятливий прогноз для хворого (летальний кінець, значне погіршення когнітивно-мнестичних функцій, втрату адаптаційних можливостей до навколишнього середовища, тощо) [5, 7].

Лікувальне курсове введення тваринам з ГПМК похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу сполуки R-86 (10 мг/кг в/ш), подібно цитиколіну (250мгкг в/о), супроводжувалось менш інтенсивним зростанням активності NSE. Так, через 96 год активність ферменту зменшилась відносно групи контрольної патології відповідно у 2,03 та 1,27 рази, а через 21 добу — у 3,84 та 2,03 рази відповідно ( $p < 0,05$ ). Така дія досліджуваних препаратів може свідчити про наявність у них цитопротекторного ефекту. Причому, в умовах гострої церебральної ішемії за здатністю зменшувати активність маркера нейро-деструкції, як у гострий так і у відновний період ГПМК, терапія сполукою R-86, за ефективністю вірогідно переважає введення цитиколіну відповідно у 1,6 та 1,9 рази. На нашу думку, позитивна динаміка активності NSE на тлі курсового введення сполуки R-86 вказує на її здатність перешкоджати розвитку деструктивних змін в ішемізованому мозку, сприяти збереженню структурної цілісності нейронів, і як наслідок, зменшувати вогнище ішемії та зону пенумбри. Важливим є також те, що цитопротекторні ефекти похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу однаково проявились як у гострому, так і у відновному періоді ішемії.

Отже, похідне 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу сполука R-86 в умовах модельного ГПМК виявляє властивості як первинного, так і вторинного церебропротектора.

Модельне гостре порушення мозкового кровообігу у щурів супроводжується значним (десятикратним) підвищенням активності NSE, що вказує на розвиток значних деструктивних змін в нейронах головного мозку тварин в умовах даного патологічного стану.

Оригінальне похідне 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу (сполука R-86) значно зменшує інтенсивність нейро-деструкції в умовах модельного ГПМК, на що вказує двократне зниження активності NSE вже в гострий період інсульту.

За спроможністю перешкоджати розвиток деструктивно-дегенеративних змін в головному мозку щурів, сполука R-86 переважає цитиколін як в гострому, так і у відновному періоді ішемічного інсульту.

Похідне 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу (сполука R-86) можна вважати перспективним церебропротектором.

## Список літератури

1. Багаурі О. В. Скринінг антигіпоксичної активності в ряду нових похідних 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу / О. В. Багаурі, Р. Г. Редькін, О. А. Ходаківський // Вісник фармації. — 2013. — № 2 (74). — С. 63—65.
2. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов : метод. рекомендации / [И. С. Чекман, Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев и др.]. — Киев, 2010. — 81 с.
3. Китаева Э. А. Нейропротективная терапия у больных с полусферным ишемическим инсультом / Э. А. Китаева, М. В. Сайхунов, Д. Р. Хасанова // Казанский медицинский журнал. — 2009. — № 5. — С. 671—675.
4. Никонов В. В. Острый ишемический инсульт: сравнительная характеристика цитиколінов / В. В. Никонов, И. С. Зозуля, Т. В. Мироненко // Медицина неотложных состояний. — 2012. — № 3 (42). — С. 28—32.
5. Оценка медиаторов воспаления при ишемическом инсульте / [Е. А. Кладова, А. В. Соснина, Б. М. Доронин и др.] // Цитокины и воспаление. — 2011. — № 4. — С. 20—26.
6. Пискунов А. К. Биомаркеры нейровоспаления / А. К. Пискунов // Нейрохимия. — 2010. — Т. 27, № 1. — С. 63—73.
7. Повреждение головного мозга при тяжелой травме: значимость клинических шкал и нейрональных маркеров / [Т. Г. Гришанова, А. В. Будаев, Е. В. Григорьев и др.] // Медицина неотложных состояний. — 2011. — № 1—2 (32—33). — С. 86—90.
8. Рекомендации по ведению больных с ишемическим инсультом и транзиторными ишемическими атаками (2008) Исполнительный комитет Европейской инсультной организации (ESO) и Авторский комитет ESO // Практична ангіологія. — 2008. — № 4. — С. 9—23.
9. Трошин В. Д. Неотложная кардионеврология / В. Д. Трошин, Н. Н. Бровков. — М: Медицинское информационное агентство, 2010. — 672 с.
10. Ходаківський О. А. Оцінка впливу експериментальної терапії адемолом на інтенсивність перебігу деструктивних змін в мембранах нейронів у монгольських піщанок в умовах гострої церебральної ішемії / О. А. Ходаківський // Вісник морфології. — 2011. — Т. 17., № 1. — С. 62—65.
11. Ходаківський О. А. Дослідження впливу похідного адамантану адемолу на фрагментацію ДНК ядер нейронів лобних часток кори за ішемії-реперфузії головного мозку у щурів / О. А. Ходаківський, І. Л. Черешнюк // Український вісник психоневрології. — 2013. — Т. 21, № 1(74). — С. 26—28.
12. Шведський В. В. Сучасна церебропротекторна терапія гострих порушень мозкового кровообігу при цукровому діабеті та шляхи її оптимізації / В. В. Шведський, С. Ю. Штриголь, О. А. Ходаківський // Клінічна фармація. — 2011. — Т. 15, № 2. — С. 7—12.
13. Яворская В. А. Цитиколін при остром інсульті: механізм действия, безопасность и эффективность (научный обзор) / В. А. Яворская, Ю. В. Фломин, А. В. Гребенюк // Международный неврологический журнал. — 2011. — № 2 (40). — С. 74—80.
14. Davalos A. Citicoline in the treatment of acute ischaemic stroke: an international, randomised, multicentre, placebo-controlled study (ICTUS trial) / A. Davalos, J. Alvarez-Sabin, J. Castillo // Lancet. — 2012. — 380. — P. 349—357.

Надійшла до редакції 27.11.2013 р.

**БАГАУРІ Ольга Віталіївна**, асистент кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; e-mail: olga.bagauri@yandex.ru

**BAGAURI Olga Vitaliivna**, Assistant of the Department of Pharmacology of the Pirogov's Vinnytsya National medical University, Vinnytsya; e-mail: olga.bagauri@yandex.ru