

І. С. Чекман, І. Ю. Яковлева, І. Ф. Беленічев,  
Н. В. Бухтіярова, Н. О. Горчакова

## Вплив таурину та пірацетаму на біохімічні показники в головному мозку щурів при циркуляторній гіпоксії

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ  
Запорізький державний медичний університет

*Ключові слова:* таурин, пірацетам, циркуляторна гіпоксія, енергетичний обмін, антиоксидантна дія, мітохондрії

Цереброваскулярні захворювання досить широко розповсюджені в усьому світі та є одними з найнебезпечніших для населення. Високі показники летальності та інвалідизації хворих обумовлюють зацікавленість учених світу до цієї патології протягом останніх десяти років. Мозкові інсульти нерідко закінчуються смертю, повною або частковою втратою працездатності, значним зниженням якості життя хворих [1]. Виходячи із цього, надзвичайно важливим є попередження загибелі нервових клітин та захист їх від пошкодження за умов ішемії, відновлення порушеного кровопостачання при патологічних змінах кровообігу.

Перспективним напрямом первинної нейропротекції при церебральній ішемії є корекція дисбалансу збудливих та гальмівних нейротрансмітерних систем за допомогою нормалізації фізіологічних шляхів утворення енергії [2]. У зв'язку з цим, привертає увагу природний нейротрансмітер таурин [3]. Таурин згідно з сучасними класифікаціями належить до метаболітних та кардіологічних лікарських засобів [3–6]. Таурин поліпшує енергетичний обмін, АТФ-залежний зв'язок кальцію з сарколемою, за окремими даними має антигіпоксичний, нейропротекторний ефект при гемічній та гістотоксичній гіпоксії [7, 8]. У той самий час вірогідна нейропротекторна активність таурину при моделюванні гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК) у щурів не встановлена [2]. Однією з загальноприй-

нятих моделей гіпоксії є циркуляторна гіпоксія, яка дозволяє вивчити вплив препаратів на різні ланки енергетичного метаболізму, тіол-дисульфідної системи та оксидативного стресу.

*Мета дослідження* – встановити нейропротективну дію таурину за біохімічними показниками у головному мозку щурів при циркуляторній гіпоксії в порівнянні з пірацетамом.

*Матеріали та методи.* Досліди проведені на 80 білих щурах обох статей стадного розведення лінії Вістар масою 220–240 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію при природній зміні дня і ночі. Модель циркуляторної гіпоксії відтворювалася згідно з Методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України [9]. В експериментах на білих щурах викликали двобічну оклюзію загальних сонних артерій, що призводило до ГПМК зі зменшенням мозкового кровообігу на 50–60 % та поступовим відновленням його до 85–90 % від вихідного рівня через 2–3 доби за рахунок компенсаторного включення колатерального кровообігу [10]. Досліджувані препарати вводили тваринам внутрішньоочеревино: таурин у дозі 100 мг/кг [11], пірацетам у дозі 500 мг/кг [12]. Евтаназію тварин проводили на 4-ту добу під легким ефірним наркозом. Для визначення біохімічних показників у гомогенаті тканини та мітохондріях головний мозок тварин гомогенізували та центрифугували за методами, описаними в [9]. Оцінку мітохондріальної дисфункції проводили шляхом спектрофотометричної реєстрації відкриття мітохондріальної пори при 540 нм ( $D_{540}$ ), що була викликана набуханням мітохондрій, а також за збереженням заряду мітохондрій [13, 14]. Для оцінки

біоенергетичних процесів в окремих пробах гомогенату головного мозку визначали активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) і цитохром-С-оксидази (ЦХО) [15]. Аденолінові нуклеотиди визначали методом тонкошарової хроматографії [15]. Уміст малату та лактату в тканині мозку визначали методом Хохорста, визначення концентрації ізоцитрату проводили за методом Зибера [15]. Стан антиоксидантної системи оцінювали за вмістом у мітохондріальній фракції маркерів окиснювального пошкодження білків – альдегідфенілгідрозонів (АФГ), кетонфенілгідрозонів (КФГ) та маркера окиснювальної модифікації нуклеїнових кислот 8-гідроксигуаніну (8-OHG) [16], а також за активністю мітохондріальної Mn-супероксиддисмутази (Mn-SOD) [17]. Стан тіол-дисульфідної системи вивчали за концентрацією цистеїну та метіоніну й за вмістом гомоцистеїну в цитозольній фракції [18].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою стандартного пакету аналізу програм статистичної обробки результатів версії Microsoft Office Excell 2003. Дані представлені у вигляді вибіркового середнього значення  $\pm$  стандартної середньої похибки середнього значення. Достовірність відмінностей між експериментальними групами оцінювали за t-критерієм Стьюдента та U-критерієм Уїтні-Манна (комп'ютерна програма «Statistica for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5).

**Результати та їх обговорення.** Моделювання ГПМК призводить до стійких порушень енергетичного обміну в головному мозку. Зниження енергетичних ресурсів головного мозку відбувалося на фоні дискоординації реакцій циклу Кребса, про що свідчило зниження рівня малату, ізоцитрату, пригнічення активності СДГ та ЦХО в клітинах головного мозку. Спостерігалася компенсаторна активація гліколізу, про що свідчить збільшення лактату в тканинах мозку. Ці зміни відбувалися на фоні мітохондріальної дисфункції,

активації вільно-радикальних реакцій, порушень у тіол-дисульфідній системі та підвищення окиснених еквівалентів. Так, моделювання ГПМК пришвидшувало відкриття мітохондріальної циклоспорин-А-залежної пори та призводило до зниження мембранного потенціалу мітохондрій. Таурин, введений щурам з ГПМК, гальмував відкриття мітохондріальної пори в суспензії мітохондрій нейронів ішемізованого мозку на 18 % у порівнянні з контролем, дещо підвищував мембранний потенціал мітохондрій (рис. 1). Це свідчить про підвищення функціональної активності мітохондрій мозку тварин з ГПМК, яким вводили таурин, хоча й не спостерігали досягнення величин показників інтактних тварин. На відміну від таурину, пірацетам взагалі не впливав на вищезазначені показники.

При моделювання ГПМК відбувається стійке порушення енергетичного обміну. Дефіцит енергетичних ресурсів головного мозку щурів виникає на фоні дискоординації реакцій циклу Кребса, про що свідчить пониження активності СДГ та ЦХО.

Уведення таурину тваринам з ГПМК сприяло підвищенню активності СДГ у 1,78 разу та ЦХО в 2,77 разу ( $P < 0,05$ ). Однак призначення таурину вірогідно не відновлювало енергетичну продукцію у головному мозку, спостерігалася лише тенденція до підвищення рівня АТФ (табл. 1).

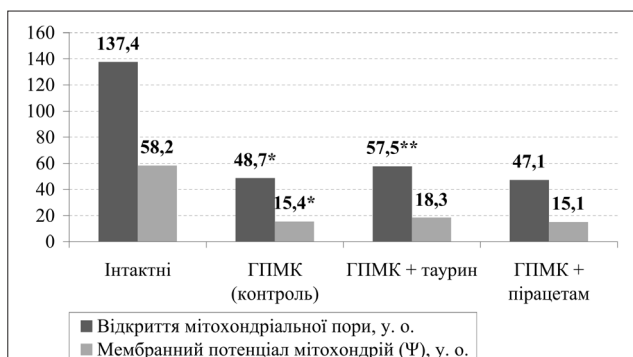


Рис. 1. Вплив таурину (100 мг/кг) і пірацетаму (500 мг/кг) на показники мітохондріальної активності в головному мозку щурів на 4-у добу ГПМК;  $n = 20$ .

Примітка. \*  $P < 0,05$  відносно інтактних тварин; \*\*  $P < 0,05$  відносно групи тварин з ГПМК.

*Вплив таурину (100 мг/кг) і пірацетаму (500 мг/кг) на показники енергетичного обміну в головному мозку щурів з ГПМК на 4-у добу експерименту; n = 20*

Умови експерименту	Показник					
	АТФ, мкмоль/г	Лактат, мкмоль/г	Малат, мкмоль/г	Ізоцитрат, мкмоль/г	СДГ, мкмоль/хв · мг білка	ЦХО, мкмоль/хв · мг білка
Інтактні тварини	2,87±0,07	3,10±0,07	0,44±0,02	0,51±0,05	7,21±0,10	3,77±0,10
Тварини з ГПМК	1,11±0,15*	8,11±0,20*	0,14±0,03*	0,21±0,02*	2,31±0,15*	1,00±0,05*
Тварини з ГПМК + таурин	1,41±0,10**	7,17±0,18**	0,22±0,06**	0,31±0,03	4,12±0,10**	2,77±0,10**
Тварини з ГПМК + пірацетам	1,52±0,07**	15,70±0,14**	0,16±0,04*	0,23±0,03*	3,25±0,15**	1,21±0,15

Примітка. Тут та в табл. 2 і 3: \*  $P < 0,05$  відносно показників інтактних тварин; \*\*  $P < 0,05$  відносно показників групи нелікованих тварин з ГПМК.

При моделюванні ГПМК спостерігалося гальмування окиснювальної продукції енергії, активація компенсаторного шляху утворення АТФ-гліколізу, який, однак, не забезпечує потребу мозку в енергії і викликає розвиток лактат-ацидозу. При цьому рівень малату й ізоцитрату в тканині знижувався. Таурин нормалізував показники гліколізу: вірогідно підвищував рівень малату в 1,57 разу ( $P < 0,05$ ), сприяв зменшенню рівня лактату і викликав тенденцію до підвищення ізоцитрату. Пірацетам у тварин з ГПМК викликає помірну енерготропну дію, тому що препарат активує анаеробні реакції гліколізу, посилює явища лактат-ацидозу, не впливає на показники активності мітохондрій [12], тим самим стимулюю-

чи механізми ішемічного пошкодження мозку (табл. 1).

Уведення таурину сприяло пониженню рівнів маркерів окиснювальної модифікації білка – АФГ у 1,51 разу та КФГ у 1,89 разу в мітохондріальній фракції, підвищенню активності Mn-SOD у мітохондріях у 1,43 разу і зниженню в добовій сечі рівня маркера окиснювальної модифікації нуклеїнових кислот 8-OHG у 1,38 разу ( $P < 0,05$ ) (табл. 2). Це свідчить про позитивний вплив таурину на функціональну активність мітохондрій та інгібуючу дію щодо різних ланцюгів окидативного стресу. Таурин, на відміну від пірацетаму, має антиоксидантну дію, що підтверджено в наших попередніх роботах [12].

Встановлено також, що таурин при застосуванні тваринам з ГПМК призво-

Таблиця 2

*Вплив таурину (100 мг/кг) і пірацетаму (500 мг/кг) на показники антиоксидантної системи в мітохондріальній фракції головного мозку тварин з ГПМК на 4-у добу експерименту; n = 20*

Показник	Інтактні	ГПМК (контроль)	ГПМК + таурин	ГПМК + пірацетам
АФГ, у.о./г білка	5,3±0,3	21,3±1,2*	14,1±0,7**	19,3±1,1
КФГ, у.о./г білка	2,10±0,15	17,8±2,1*	9,4±0,5**	18,0±3,1
8-OHG, нг/л	24,4±1,6	121,4±11,5*	87,4±3,2**	118,4±11,5
Mn-SOD, у.о./хв · мг білка	140,1±11,2	72,20±2,17*	103,7±4,2**	64,2±2,1

Вплив таурину (100 мг/кг) і пірацетаму (500 мг/кг) на показники тіол-дисульфідної системи;  $n = 20$

Умови експерименту	Показник		
	Цистеїн, мкмоль/г білка	Метіонін, мкмоль/г білка	Гомоцистеїн, мкмоль/г білка
Інтактні тварини	46,0±1,1	28,8±9,0	5,8±0,3
ГПМК	17,1±1,7*	15,6±2,1*	41,4±6,0*
Таурин + ГПМК	34,4±2,1**	26,1±1,2**	7,1±0,2**
Пірацетам + ГПМК	16,3±1,3*	14,0±2,7*	37,6±3,7*

див до підвищення вмісту амінокислот з відновленими тіоловими групами – цистеїну в 2 рази і метіоніну в 1,67 разу та зниження вмісту гомоцистеїну в 5,83 разу, що свідчить про регулюючий вплив препарату на тіол-дисульфідну рівновагу в головному мозку за умов ішемії ( $P < 0,05$ ). Позитивний вплив на тіол-дисульфідну рівновагу, контроль за підвищеним утворенням окиснених еквівалентів – важлива ланка антиоксидантної дії таурину. Окисна модифікація низькомолекулярних тіолів, утворення гомоцистеїну, що спостерігається за умов ішемії мозку, призводить до порушення транспорту NO з утворенням його цитотоксичних дериватів (пероксинітриду, нітрозонію тощо) [12]. Підвищення під дією таурину активності тіолової антиоксидантної системи, здатної регулювати транспорт NO, забезпечує стійкість нейрона до нітрозуючого стресу – найбільш раннього нейродеструктивного механізму за умов ішемії [12]. Пірацетам вищезазначені показники не відновлював (табл. 3).

Таурин, проникаючи в мітохондрії, здатний попереджати інгібіцію мітохондріальної Mn-SOD гомоцистеїном і тим самим гальмувати «паразитарні» реакції утворення АФК у мітохондріях. Позитивна дія таурину на функціональну активність мітохондрій забезпечується за рахунок анти-

оксидантних ефектів, відновлення тіолових білків та регуляції активності мітохондріальної пори. Останній механізм можливо і є головним у нейропротективній дії даного лікарського засобу. Подібний факт можна пояснити тим, що таурин як кінцевий продукт обміну цистеїну має захисний ефект при пошкодженнях, що викликані гомоцистеїном [19].

Отримані результати не суперечать даним інших дослідників, які встановили, що таурин є метаболітотропним нейропротектором з антиоксидантним та енерготропним механізмом [6, 12].

## Висновки

1. Таурин, на відміну від пірацетаму, при внутрішньоочеревинному введенні щурам з циркуляторною гіпоксією головного мозку в дозі 100 мг/кг гальмував відкриття мітохондріальної пори в суспензії мітохондрій нейронів ішемізованого мозку, і проявляв тенденцію до відновлення мембранного потенціалу мітохондрій.
2. Таурин, на відміну від пірацетаму, при внутрішньоочеревинному шляху введення щурам з циркуляторною гіпоксією головного мозку в дозі 100 мг/кг, відновлював показники гліколізу, циклу Кребса, антиоксидантної та тіол-дисульфідної систем.

1. Лукьянова Л. Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции / Л. Д. Лукьянова // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 2011. – № 1. – С. 3–19.
2. Вивчення ефективності мембранопротекторних засобів в умовах ішемічного та реперфузійного пошкодження мозку / В. П. Кутняк, Н. О. Горчакова, Т. В. Кава [та ін.] // Наук. вісник нац. мед. унів. ім. О. О. Богомольця. – 2008. – № 1. – С. 35–39.
3. Вислобоков А. И. Мембранотропное действие фармакологических средств / А. И. Вислобоков, Ю. Д. Игнатов, П. А. Галенко-Ярошевский, П. Д. Шабанов. – Краснодар: Просвещение Юг, 2010. – 528 с.

4. Молекулярные механизмы воздействия аминокислот в составе церебролизина на нейротрансмиссию. Нейротрофические и нейропротективные эффекты аминокислот / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, Е. И. Гусев [и др.] // Трудный пациент.– 2010.– № 2.– С. 25–31.
5. Чекман И. С. Метаболитные и метаболитотропные препараты в системе кардио- и органопротекции / И. С. Чекман, Н. А. Горчакова, С. Б. Французова, Е. А. Нагорная.– К., 2009.– 155 с.
6. Taurine activates glycine and [gamma]-aminobutyric and A receptors in rat substantia gelatinosa neurons / J. Wu, T. Kohno, S.K. Georgiev [et al.] // Neuroreport.– 2008.– V. 19, № 3.– P. 333–337.
7. Нові шляхи патогенетичної корекції гемічної гіпоксії / І. М. Маньковська, А. І. Назаренко, В. І. Носар [та ін.] // Физиол. журн.– 1992.– Т. 38, № 2.– С. 43–47.
8. Бабак В. В. Фармакодинамика сочетанного применения сердечных гликозидов с цистеином, ацетилцистеином, таурином: Автореф. дис. канд. мед. наук / В. В. Бабак.– К.: Киев. мед. институт, 1990.– 22 с.
9. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов. Методические рекомендации / И. С. Чекман, Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев [и др.].– К., 2010.– 80 с.
10. Tyson G. W. Focal cerebral ischemia in the rat: Topography of hemodynamic and histopathological changes / G. W. Tyson, G. M. Teasdale, D. I. Graham, J. McCulloch // Ann. Neurol. –1984.– V. 15.– P. 559–567.
11. Таурин: стресс-протекторное действие в эксперименте / Т. В. Звягинцева, Л. Т. Киричек, А. С. Кратенко [и др.] // Эксперим. і клін. мед.– 2006.– № 3.– С. 33–36.
12. Рациональная нейропротекция / И. Ф. Беленичев, В. И. Черный, Ю. М. Колесник [и др.].– Донецк: Издатель Заславский А. Ю., 2009.– 262 с.
13. Акопова О. В. Инструкция открытия митохондриальной поры под действием  $Ca^{2+}$  в миокарде крыс / О. В. Акопова, В. Ф. Сагач // Укр. биохим. журнал.– 2004.– Т. 76, № 1.– С. 48–50.
14. Lenartowicz E. Phenylarsine oxide induces the cyclosporine A-sensitive membrane permeability transition in rat liver mitochondria / E. Lenartowicz, P. Bernardi, G. F. Azzone / J. Bioenerg. Biomembr.– 1999.– V. 23, № 4.– P. 679–688.
15. Прохорова М. И. Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): под ред. М. И. Прохоровой.– Л.: Изд-во Ленинградского ун-та 1982.– 272 с.
16. Halliwell B. Free radicals in biology and medicine / В. Halliwell, J. M. Gutteridge.– Oxford: Clarendon Press, 1985.– 346 p.
17. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и методы ее определения в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Сеней // Лаб. дело.– 1988.– № 11.– С. 678–681.
18. Соколовский В. В. Тиодисульфидные соотношения крови как показатель состояния неспецифической резистентности организма / В. В. Соколовский.– СПб, 1996.– 30 с.
19. Protective effect of taurine against free radicals damage in the rat myocardium / J. Hanna, R. Chahine, G. Aftimos [et al.] // Exp. toxicol. pathol.– 2004.– V. 50, № 3.– P. 189–194.

**И. С. Чекман, И. Ю. Яковлева, И. Ф. Беленичев,  
Н. В. Бухтиярова, Н. А. Горчакова**

### **Влияние таурина и пирацетама на биохимические показатели в головном мозге крыс при циркуляторной гипоксии**

Экспериментальными исследованиями на крысах установлено нейропротективное действие таурина при циркуляторной гипоксии по функциональной активности митохондрий, показателям гликолиза, цикла Кребса, антиоксидантной и тиол-дисульфидной систем.

*Ключевые слова:* таурин, пирацетам, циркуляторная гипоксия, энергетический обмен, антиоксидантное действие, митохондрии

**I. S. Chekman, I. Yu. Yakovleva, I. F. Belenichev, N. V. Buchtijarova,  
N. A. Gorchakova**

### **Taurine and piracetam influences on the biochemical parameters in brain of rats with circulatory hypoxia**

Taurine neuroprotective action on functional activity of mitochondrions, parameters of glycolysis, Krebs' cycle, antioxidant and thiol-disulfide systems has been established in brain of rats with circulatory hypoxia.

*Key words:* taurine, piracetam, circulatory hypoxia, energetic metabolism, antioxidant action, mitochondrions

Надійшла: 23.01.2012 р.

**Контактна особа:** Чекман І. С., завідувач кафедри фармакології та клінічної фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, просп. Перемоги, 34, м. Київ.  
Тел.: (44) 454-49-24.