

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ ім.М.І.ПИРОГОВА**

**Г.І.СТЕПАНЮК, В.М.МОРОЗ,  
О.А.ХОДАКІВСЬКИЙ, Н.І.ВОЛОЩУК**

**АДЕМОЛ:  
НОВИЙ ПІДХІД ДО  
ЦЕРЕБРОПРОТЕКЦІЇ**

**ВІННИЦЯ – 2018**

УДК: 615.217:616.831-005

ББК

**Колектив авторів:**

**Степанюк Г.І., Мороз В.М., Ходаківський О.А., Волощук Н.І., Драчук О.П., Степанюк Н.Г., Галаченко В.В., Лозинський М.О., Короткий Ю.В., Сергеев С.В., Черешнюк І.Л.**

**Рецензенти:**

**І.Ф. Беленічев** - д.біол.н., професор, завідувач кафедри фармакології Запорізького державного медичного університету МОЗ України;

**М.Я. Головенко** – д.біол.н., професор, академік НАМН України, завідувач відділом фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України

**В.Д. Лук'янчук** – д.мед.н., професор, заслужений діяч науки та техніки України, головний науковий співробітник відділу медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»

Схвалено та рекомендовано до друку (протокол № 9 від 26 квітня 2018 р.)  
Вченою радою Вінницького національного медичного університету ім.  
М.І.Пирогова

**Адемом: новий підхід до церебропротекції (монографія).** / Г.І.Степанюк, В.М.Мороз, О.А.Ходаківський, Н.І.Волощук [та ін.]. – Вінниця: Нова книга, 2018. –

В монографії наведено теоретичне узагальнення та експериментальне вирішення актуальної проблеми фармакології – оптимізація фармакотерапії порушень мозкового кровотоку шляхом застосування модулятора NMDA-рецепторів адемолу (1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду). На великому експериментальному матеріалі з використанням моделей білатеральної каротидної оклюзії у щурів та гербел доведено, що адемом подібно до препарату-порівняння цитиколіну сприятливо впливає на внутрішньоклітинні ланки патобіохімічного каскаду в нейронах, корегує перебіг глутаматної ексайтотоксичності. При цьому виявлено певні відмінності та переваги адемолу перед референс-препаратом. Визначено перспективи клінічного застосування адемолу в якості церебропротекторного засобу.





### **Степанюк Георгій Іванович**

Доктор медичних наук, професор, професор кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова.

Автор понад 400 наукових праць, в т.ч. 8 монографій, підручників та посібників з фармакології, 52 винаходів.

Під його керівництвом та науковій консультації підготовлено 4 докторів та 28 кандидатів медичних та фармацевтичних наук. Співавтор розробки 4-х вітчизняних лікарських препаратів.



### **Мороз Василь Максимович**

Доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки та техніки України. Лауреат Державної премії України, ректор Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, Герой України.

Автор понад 400 наукових праць в галузі нормальної фізіології, в т.ч. 47 монографій, підручників та навчальних посібників, 41 винаходу.

Під його керівництвом та науковій консультації підготовлено 21 доктора та кандидата медичних та біологічних наук.



**Ходаківський Олексій Анатолійович**  
Доктор медичних наук, професор, професор кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, Лауреат премії Президента України для молодих вчених 2017 року.  
Автор понад 160 наукових праць з фармакології, в т.ч. 9 патентів на винаходи, 2 інформаційних листів.  
Підготував 1 кандидата медичних наук.



**Волощук Наталія Іванівна**  
Доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова.  
Автор понад 200 наукових праць, в т.ч. 9 посібників з фармакології, 4 інформаційних листів, 18 винаходів.  
Підготувала 1 кандидата медичних наук.

**Драчук Ольга Петрівна**

Кандидат медичних наук, доцент кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова.

Автор 70 наукових праць з фармакології, 5 патентів на винаходи, 2 інформаційних листів.

**Лозинський Мирон Онупрієвич**

Доктор хімічних наук, професор, академік Національної академії наук України, директор Інституту органічної хімії НАН України (1998-2011 рр.).

Автор понад 450 наукових праць, в т.ч. 4 монографій, 267 винаходів.

Під його керівництвом та науковій консультації підготовлено 2 доктора та 11 кандидатів наук.

**Короткий Юрій Васильович**

Кандидат фармацевтичних наук, завідувач відділом трансферу технологій, інновацій та інтелектуальної власності Інституту органічної хімії НАН України, заслужений винахідник України.

Автор 26 наукових праць в галузі органічної хімії та фармакології, опублікованих у вітчизняних та закордонних виданнях, 46 винаходів.

***ПРИСВЯЧУЄТЬСЯ:***

- **80-РІЧЧЮ** кафедри фармакології  
Вінницького національного  
медичного університету імені  
М.І.Пирогова;
- Світлій пам'яті *професора*  
**СТОЛЯРЧУКА ОЛЕКСАНДРА**  
**ОЛЕКСАНДРОВИЧА** – ініціатора  
розробки лікарських препаратів з  
поліфункціональними  
властивостями.





*«... хворий, що знаходиться в клініці з приводу лікування якогось захворювання (основного), нерідко страждає і від супутніх недугів. Це змушує лікаря призначати не один, а декілька препаратів з різною дією та походженням (різної хімічної структури), сумісність яких може викликати сумніви. Виходячи з цього, цілком очевидно, що ліпше назначити один лікарський засіб, який здатний викликати не один, а декілька позитивних ефектів, необхідних конкретному хворому».*

**Проф. О.О.Столярчук**

## Зміст

		стор
<b>Передмова</b>		
<b>Вступ</b>	<b>Ішемія головного мозку – важлива медико - соціальна проблема сьогодні</b>	9
<b>Розділ 1</b>	<b>Сучасні патогенетичні підходи до фармакотерапії ішемічних уражень головного мозку (огляд літератури)</b>	15
<b>Розділ 2</b>	<b>Скринінг церебропротекторної активності в ряду нових похідних адамантану</b>	46
	2.1. Профілактична ефективність адамантанів при експериментальному гострому порушенні мозкового кровотоку	48
	2.2. Порівняльна оцінка впливу найбільш ефективних сполук на активність NMDA-рецепторів	53
<b>Розділ 3</b>	<b>Порівняльна характеристика церебропротекторної дії адемолу, цитиколіну, мексидолу, актовегіну, пірацетаму та вінпоцетину</b>	62
	3.1 Вплив досліджуваних речовин на виживаність щурів та монгольських піщанок на моделі гострої церебральної ішемії	62
	3.2 Оцінка впливу адемолу на кровопостачання головного мозку в нормі та за гострої церебральної ішемії	68
	3.3. Дослідження неврологічного дефіциту в щурів із моделлю гострого порушення мозкового кровообігу під впливом адемолу та оцінка його мнемотропної активності у відновному періоді церебральної ішемії	73

	3.4. Вплив адемоу на морфологічні зміни у головному мозку щурів із гострою церебральною ішемією	76
<b>Розділ 4</b>	<b>Біохімічні та клітинні механізми церебропротекторної дії адемоу</b>	122
	4.1. Вплив адемоу на показники енергетичного метаболізму в ішемізованому головному мозку щурів.	122
	4.2. Стан кислотно-лужної рівноваги на тлі дії адемоу.	125
	4.3. Вплив адемоу на обмін монооксиду азоту в структурах ішемізованого головного мозку щурів	129
	4.4. Оксидантно-антиоксидантний баланс у головному мозку щурів із церебральною ішемією на тлі адемоу.	133
	4.5. Вплив адемоу на деструкцію мембран нейронів у монгольських піщанок на моделі гострого порушення мозкового кровообігу за активністю нейрон-специфічної енолази.	137
	4.6. Оцінка антиапоптотичної активності адемоу в умовах модельного ГПМК у щурів за критерієм експресії генів раннього реагування.	139
	4.7. Вплив адемоу на фрагментацію ДНК ядер нейронів за ішемії-реперфузії головного мозку.	143
<b>Розділ 5</b>	<b>Ефективність адемоу у постреперфузійний період тотальної ішемії ока крізь призму засад сучасної нейроретинопротективної терапії</b>	150
<b>Розділ 6</b>	<b>Ноотропні властивості адемоу</b>	160
<b>Розділ 7</b>	<b>Характеристика актопротекторних властивостей</b>	

	<b>адемоу в ускладнених умовах експерименту</b>	165
<b>Розділ 8</b>	<b>Аналіз та узагальнення результатів проведених досліджень</b>	180
<b>Висновки</b>		198
<b>Список літератури</b>		
<b>Патенти</b>		

## Умовні скорочення

АВ – істинний бікарбонат

АДФ - аденозиндифосфорна кислота

АМФ – аденозинмонофосфорна кислота

АСК – ацетилсаліцилова кислота

АТФ - аденозинтрифосфорна кислота

АФГ – альдегідфенілгідрозони

БКО – білатеральна каротидна оклюзія

ВВ – сума основ буферних систем

ВЕ – дефіцит буферних основ

ВНМУ – Вінницький національний медичний університет

ГПМК – гостре порушення мозкового кровотоку

ГПР - глутатіонпероксидаза

ДК – дієнові кон'югати

ЕД - ендотеліальна дисфункція

ІР – ішемія - реперфузія

КЛР - кислотно-лужна рівновага

КФГ – карбоксилфенілгідрозони

МДА - малоновий диальдегід

МЦР – мікроциркуляторне русло

ОМБ – окисна модифікація білка

ОШМК – об'ємна швидкість мозкового кровотоку

НК – нуклеїнові кислоти

СА – сонна артерія

СОД – супероксиддисмутаза

ТК – триєнкетони

УРПУ – умовна реакція пасивного уникання

ЦНС - -центральна нервова система

ЦВТ – центральний венозний тиск

NOS – NO-синтаза

NSE – нейронспецифічна енолаза

NMDA – N – метил – D – аспартат

SaO<sub>2</sub> – сатурація крові киснем

## Передмова

*Народження Адемолу, як нового оригінального вітчизняного церебропротекторного засобу, стало можливим завдяки, в першу чергу, академіку НАН України М.О.Лозинському. Коли у 2001 році через комерційну недоцільність Адемол був знятий з виробництва на фармацевтичній фірмі «Дарниця» та припинено його клінічні випробування в якості утеротоніка, саме Мирон Онуфрієвич звернувся до нас з проханням продовжити експериментальне вивчення Адемолу як засобу, що покращує пам'ять, тобто в якості ноотропа. На його думку, підставою для цього є дані про те, що Адемолу притаманна властивість покращувати мнестичні процеси у експериментальних тварин, що зафіксовано у Патенті України №23451 (1999 р.).*

*Разом з цим акад. М.О. Лозинський зазначив, що в Інституті органічної хімії НАН України, який він очолює, можна у короткий термін створити цілі ряди структурних аналогів цієї сполуки. І, не виключено, що серед них вдасться виявити речовини не лише з ноотропною, але і іншими цінними фармакологічними ефектами. Зокрема, актопротекторним, оскільки, за даними літератури, ця властивість притаманна адамантанам.*

*Саме це слугувало поштовхом для початку широкомасштабної роботи з синтезу та вивчення фармакологічних ефектів Адемолу та його структурних аналогів, що лягло в основу даної монографії і підтвердило наукове передбачення.*

*Слід назвати прізвище ще одного вченого, причетного до створення Адемолу – зав. відділом трансферу технологій, інновацій та інтелектуальної власності ІОХ НАНУ, к.фарм.н. Юрія Васильовича Короткого, який безпосередньо розробив метод синтезу цієї сполуки. Завдяки цьому вона отримала лабораторний шифр ЮК-1. Згодом, виходячи із структурної формули сполуки, була запропонована назва «Адемол»: адамантан +*

*етиленовий фрагмент + морфолін + ол (залишок спирту). Ось так народився Адемол.*

*Важливою перевагою Адемолу перед сучасними церебропротекторними засобами є те, що він поєднує у собі цілий комплекс цінних фармакологічних властивостей - протиішемічна, протигіпоксична, антиоксидантна, актопротекторна та ін., кожна з яких органічно доповнює одна одну. Тобто Адемол є препаратом з поліфункціональними ефектами.*

*Ключовою ланкою механізму захисної дії Адемолу на ішемізований мозок є його модулюючий вплив на NMDA- рецептори, що супроводжується швидкою блокадою/деблокадою вказаного іонно-рецепторного комплексу. Це дає підставу сподіватись, що Адемол стане церебропротекторним засобом нового покоління - більш ефективним та безпечним.*

*Про доцільність створення лікарських засобів з політропними фармакологічними властивостями ще в середині минулого століття наголошував проф. Столярчук Олександр Олександрович, який протягом майже 30-ти років очолював кафедру фармакології нашого університету. Тому можна вважати, що Адемол є своєрідним подарунком нашому Вчителю.*

Академік НАМН України, професор

В.М.Мороз

Професор

Г.І. Степанюк



## ІШЕМІЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ – ВАЖЛИВА МЕДИКО-СОЦІАЛЬНА ПРОБЛЕМА СЬОГОДЕННЯ

*В.М.Мороз, Г.І.Степанюк, Н.І.Волощук*

Судинна патологія вже багато років займає лідируючі позиції серед причин інвалідності та смертності людей працездатного віку як в Україні, так і в усьому світі. Серед таких захворювань найбільш важкими, а інколи фатальними, є порушення мозкового кровообігу. Висока медико-соціальна значущість ішемічного мозкового інсульту пояснюється його значною питомою вагою в структурі основних показників здоров'я населення: захворюваності, смертності та інвалідності [І. С. Зозуля 2011., Е. І. Гусев, М. Ю. Мартынов, П. Р. Камчатнов 2014].

За визначенням Всесвітньої організації охорони здоров'я, мозковий інсульт (МІ), - це клінічний синдром порушень церебральної функції, що швидко виник і триває понад 24 години. Проблема ефективної профілактики та фармакотерапії наразі залишається актуальною і обумовлена високою частотою захворюваності, тяжкими наслідками та складністю у лікуванні.

Мозковий інсульт кожного року вражає 33 мільйони людей у всьому світі [D. Mozaffarian 2014]. За даними офіційної статистики Міністерства охорони здоров'я в Україні в складі цереброваскулярної патології фіксується близько 110 тисяч первинних інсультів за рік, де більша третина випадків припадає на людей працездатного віку. Так, наприклад, захворюваність на мозковий інсульт на 100 тисяч населення у 2015 році в Україні становила 274,1 випадків. Показник летальності від судинних уражень мозку в Україні більш як в 25 разів перевищує такий показник високорозвинених країн Західної Європи і він продовжує зростати. Невтішна статистика свідчить, що в перші 30 днів гинуть близько третини хворих на мозковий інсульт, протягом 1 року – близько половини постраждалих, а серед тих, хто залишились живими, біля 25% довічно потребують сторонньої допомоги [Д.В. Гуляев, 2007].

Серед загальної кількості інсультів, кількість ішемічних уражень значно переважає кількість геморагічних і становить близько 80-85% до 20-25%. Однак досить велика частка (15,6%) померлих від інсульту не має точного діагнозу, оскільки їх не було вчасно оглянуто неврологом та не проведено нейровізуалізацію [Т.С. Міщенко, 2010]. 90 % таких пацієнтів – це люди похилого та старечого віку. Близько третини пацієнтів після інсульту мають тяжкі наслідки, які обумовлюють стійку втрату працездатності та залежність від сторонньої допомоги [І. С. Зозуля, 2012]. Постінсультна інвалідизація займає провідне місце серед всіх причин інвалідизації та становить понад 3 на 10 000 населення протягом наступних 5 років після інсульту. Серед причин смертності даний патологічний стан посідає друге місце після інфаркту міокарда [А. В. Карзин, 2003., М. І. Салій, 2014]. Враховуючи прогресуюче старіння населення планети, як і те, що ішемічний інсульт частіше вражає людей похилого віку, є всі підстави вважати, що ця проблема залишиться актуальною і у майбутньому.

Завдяки дослідженням останніх десятиліть суттєво змінились уявлення про механізм пошкоджуючої дії церебральної ішемії. Ішемічний інсульт вважається невідкладним станом, який потребує швидкої та патогенетично обгрунтованої терапії, яка повинна бути максимально ефективною у межах "терапевтичного вікна" (Е.И. Гусев, В.И. Скворцова, 2001; С.М. Віничук, М.М. Прокопів, 2006; З.А. Суслина, 2009; В.И. Черний и др., 2014; И.Ф. Беленичев и др., 2015).

Відомо, що протягом кількох годин навкруги центрального "точкового" інфаркту мозку існує ішемізована, але жива тканина – так звана "ішемічна напівтінь", або пенумбра, у якій в цілому зберігається енергетичний метаболізм, мають місце лише функціональні зміни при збереженні структури. Ділянка "ішемічної напівтіні" може бути збережена відновленням адекватної перфузії тканин мозку та застосуванням нейропротективних засобів. Тому пенумбра є головною мішенню терапії

інсульту в перші години та дні захворювання (В.И. Скворцова, 2004; Б.С. Виленский, 2005; А.П. Скороходов и др., 2007; В.И.Черный и др., 2014).

Реперфузія, згідно з точкою зору фахівців (В.И. Скворцова, 2004; А.А. Скоромец и др., 2007) найбільш ефективна у перші хвилини ішемічного інсульту. Згідно з експериментальними даними доцільність терапевтичної реперфузії зберігається у межах 3-6 годин. У пізніші строки значно зростає ризик не лише реперфузійного пошкодження, але й геморагічних ускладнень.

Тому більш перспективним вважається інший напрямок терапії ішемічного інсульту – нейропротекція (цитопротекція, метаболічний захист мозку). Виділяють первинну та вторинну нейропротекцію. За результатами експериментальних досліджень, проведених на моделях гострої фокальної ішемії головного мозку, основною задачею первинної нейропротекції є переривання швидких механізмів глутаматкальцієвого каскаду з метою корекції дисбалансу збуджуючих та гальмівних нейротрансмітерних систем та активації природніх гальмівних процесів (В.И. Скворцова, 2004; А.П. Скороходов и др., 2007; А.А.Скоромец, М.М.Дьяконов, 2007; Т.В.Черный, И.А.Андропова, 2010; О. В. Ткаченко, І.О. Цьоха, 2012; И.Ф.Беленичев и др., 2015).

Доведено, що серед засобів первинної нейропротекції, яка проводиться протягом перших 3 днів інсульту й особливо активно в перші 12 годин захворювання, є неконкурентні антагоністи NMDA – рецепторів, зокрема препарати магнію. Донедавна магнію сульфат був практично єдиним засобом, який був внесений в міжнародні рекомендації з ведення хворих з гострим ішемічним інсультом. Однак в 2018 році Американська інсультна асоціація (ASA) вилучила магнію сульфат з рекомендацій з лікування хворих з гострим ішемічним інсультом за відсутності доказової бази [Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association, 2018]. Продовжуються клінічні випробування ремацеміду – низькоафінного антагоніста NMDA – рецепторів. Проводяться спроби селективної блокади

NMDA – рецепторів. Однак їх ефективність виявилась недостатньою (В.И. Скворцова, 2004; О. В. Ткаченко, І.О. Цьоха, 2012; В.И. Черний и др., 2008). Клінічні випробування більшості найбільш ефективних в експериментах нейропротекторів - блокаторів NMDA – рецепторів були припинені через широкий спектр серйозних побічних реакцій (Е.И. Гусев, В.И. Скворцов, 2001; А.Кондратьев и др., 2015).

Беручи до уваги той факт, що фонова активність NMDA-рецепторів формує фізіологічний перебіг основних процесів у центральній нервовій системі, ефективність може бути досягнута за рахунок, так званих, антагоністів NMDA-рецепторів зі швидкою кінетикою "блокади/деблокади". Таким чином, згідно з точкою зору W. Neuhaus et. al. (2012), такий препарат за рахунок швидкої блокади NMDA-рецепторів, перешкоджає наростанню глутаматної ексайтотоксичності, а з іншої сторони, під час наступної деблокади – забезпечує підтримання тих мінімальних концентрацій глутамату, які необхідні для реалізації життєво важливих процесів у головному мозку.

Враховуючи сучасні уявлення про можливість виживання тканини мозку в ділянці пенумбри протягом як мінімум 48-72 год після порушення мозкового кровообігу, особливе значення набула розробка нових ефективних методів вторинної нейропротекції, спрямованих на запобігання відтермінованих механізмів смерті клітин мозку завдяки впливу на ішемізовану ділянку мозку. Це передбачає нормалізацію функції енергозалежних клітинних мембран, усунення надлишкового синтезу NO та оксидативного стресу, активізації мікроглії та пов'язаних з нею дисбалансу цитокінів, імунних зрушень, локального запалення, розладів мікроциркуляції, трофічної дисфункції та апоптозу.

До основних напрямків вторинної нейропротекції належать: корекція енергетичного обміну, антиоксидантна терапія, пригнічення місцевої запальної реакції, покращення трофічного забезпечення мозку, регуляція рецепторних структур. Серед засобів вторинної нейропротекції широко

використовують такі препарати як пірацетам, емоксипін, мексидол, семакс, цитиколін, актовегін, церебролізін, гамма-аміномасляна кислота, кортексин, кронаксиал, гліатилін, пентоксифілін, еуфілін, вінпоцетин та ін. Доклінічні дослідження вказаних нейропротекторів продемонстрували достатньо високу захисну дію їх на ішемізований мозок на моделях інсульту у тварин. Проте використання зазначених препаратів у базових схемах лікування ішемічного інсульту залишається дуже дискусійним як через не завжди достатню їх ефективність, так і наявність побічних ефектів, які обмежують широке застосування цих засобів у клінічних умовах (Б.С. Виленский, 2005; З.А. Суслина, М.А. Пирадова, 2009; А.П. Скороходов и др., 2007; С.М. Віничук, М.М. Прокопів, 2006; О. В. Ткаченко, І.О. Цьоха, 2012; В.И. Черний и др., 2008).

Наведені дані вказують на те, що однією із пріоритетних задач сучасної фармакології є пошук та розробка нових підходів до нейропротекції ішемізованого головного мозку. На наш погляд, перспективним напрямком у терапії ішемічного інсульту може бути створення та використання препаратів з поліфункціональними ефектами, які добре співставляються з багатограним патогенезом ішемічного інсульту. Таким вимогам цілком відповідають похідні адамантану, серед яких на кафедрі фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова були виявлені та досліджені сполуки цього класу хімічних речовин із виразною актопротекторною активністю, співставимою з бемітилом (О.П. Лонська та ін., 2007). У ході проведених досліджень встановлено, що в основі механізму стимулюючої дії адамантанів на фізичну витривалість тварин в ускладнених умовах експерименту лежить їх спроможність нормалізувати порушений енергетичний метаболізм, показники оксидантно - антиоксидантного гомеостазу, спроможність стимулювати білоксинтетичні процеси в печінці та скелетних м'язах, а також наявність протиішемічного та протигіпоксичного ефектів (О.П. Лонська, 2008). Окрім зазначених властивостей адамантанам притаманні і інші цінні фармакологічні властивості: ноотропна,

анальгетична, транквілізуюча, антиамнестична, адаптогенна, утеростимулююча, фріго- та термопротекторна (Л.М. Зайцев Ю.В. Короткий та ін., 2003; Ю.В. Короткий та ін., 2002; С.В.Сергеев та ін., 2005; О.П. Лонська, 2008).

Враховуючи широкий спектр фармакологічних ефектів адамантів, є всі підстави сподіватись на наявність серед сполук цього класу речовин із захисною дією на ішемізований головний мозок.

Тому метою даного дослідження було: провести скринінг церебропротекторної активності в ряду нових похідних адамантану, встановити залежність величини захисної дії на ішемізований мозок від хімічної структури та спроможності модулювати активність NMDA – рецепторів, виявити та провести поглиблене вивчення фармакодинаміки сполуки, конкурентоспроможної із сучасними аналогами та перспективної для створення на її основі нового лікарського засобу для терапії ішемічного інсульту.

## РОЗДІЛ 1

### СУЧАСНІ ПАТОГЕНЕТИЧНІ ПІДХОДИ ДО ФАРМАКОТЕРАПІЇ ІШЕМІЧНИХ УРАЖЕНЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

*Н.І. Волощук, О.А. Ходаківський, Г.І. Степанюк*

Судинна патологія вже багато років займає лідируючі позиції серед причин інвалідності та смертності людей працездатного віку. Серед таких захворювань найбільш важкими, а інколи фатальними, є порушення мозкового кровообігу. Висока медико-соціальна значущість ішемічного мозкового інсульту пояснюється його значною питомою вагою в структурі основних показників здоров'я населення: захворюваності, смертності та інвалідності [І. С. Зозуля 2011., Е. І. Гусев, М. Ю. Мартынов, П. Р. Камчатнов 2014].

Мозковий інсульт (МІ), за визначенням Всесвітньої організації охорони здоров'я, - це клінічний синдром порушень церебральної функції, що швидко виник і триває понад 24 години. Проблема ефективної профілактики та фармакоterapiї наразі залишається актуальною і обумовлена високою частотою захворюваності, тяжкими наслідками та складністю у лікуванні.

Мозковий інсульт кожного року вражає 33 мільйони людей у всьому світі [D. Mozaffarian 2014]. За даними офіційної статистики Міністерства охорони здоров'я в Україні в складі цереброваскулярної патології фіксується близько 110 тисяч первинних інсультів за рік, де більша третина випадків припадає на людей працездатного віку. Так, наприклад, захворюваність на мозковий інсульт на 100 тисяч населення у 2015 році в Україні становив 274,1 випадків. Показник летальності від судинних уражень мозку в Україні більш як в 25 разів перевищує такий показник високорозвинених країн Західної Європи і він продовжує зростати. Невтішна статистика свідчить, що в перші 30 днів гинуть близько третини

хворих на мозковий інсульт, протягом 1 року – близько половини постраждалих, а серед тих, хто залишились живими, біля 25% довічно потребують сторонньої допомоги [Д.В. Гуляев, 2007].

Серед загальної кількості інсультів, кількість ішемічних уражень значно переважає кількість геморагічних і становить близько 80-85% до 20-25%. Однак досить велика частка (15,6%) померлих від інсульту не має точного діагнозу, оскільки їх не було вчасно оглянуто неврологом та не проведено нейровізуалізацію [Т.С. Міщенко, 2010]. 90 % таких пацієнтів – це люди похилого та старечого віку. Близько третини пацієнтів після інсульту мають тяжкі наслідки, які обумовлюють стійку втрату працездатності та залежність від сторонньої допомоги [І. С. Зозуля, 2012]. Постінсультна інвалідизація займає провідне місце серед всіх причин інвалідизації та становить понад 3 на 10 000 населення протягом наступних 5 років після інсульту [А. В. Карзин, 2003., М. І. Салій, 2014]. Це переконливо доводить соціально-економічну важливість своєчасної діагностики та ефективного лікування мозкового інсульту.

### ***Основні ланки патогенезу ГПМК***

Фахівці зазначають, що судинні захворювання головного мозку – це не локальний церебральний процес, а системна патологія серцево-судинної системи з ураженням головного мозку, порушенням коронарного і периферичного кровообігу, які залежать один від одного. Ні один з варіантів гострого чи повільного порушення мозкового кровообігу не виникає у здорової людини, він є ускладненням уже існуючих захворювань. Серед факторів ризику виникнення судинних захворювань мозку можна виділити доведені та вірогідні. Доведено, що судинна патологія мозку асоціюється з атеросклеротичними змінами судин головного мозку, артеріальною гіпертензією, поєднанням цих двох факторів, а також ішемічною хворобою серця, серцевими аритміями, а також наявністю в анамнезі транзиторних ішемічних епізодів. Нерідко до появи інсультів мозку можуть приводити захворювання нирок,



нейроциркуляторні дистонії, ендокринна патологія (щитовидної залози, наднирників, цукровий діабет), токсичні ураження судин при екзогенних та ендогенних інтоксикаціях, пухлини та травматичні ураження головного мозку. До вірогідних (можливих) факторів слід віднести старечій вік, стать (до 55-60 років – чоловіча, а після – жіноча), генетична схильність, паління, надмірне вживання алкоголю, ожиріння, гіподинамія, метаболічний синдром, емоційні стреси тощо. Особливо небезпечним є поєднання двох або більше факторів одночасно.

Мозковий інсульт – це захворювання, яке належить до невідкладних станів. Особливостями перебігу цього патологічного процесу є швидкий і часто незворотній розвиток порушень свідомості та вітальних функцій організму. При цьому в межах досить обмеженого часового проміжку у пацієнта відбувається ціла низка патофізіологічних та біохімічних процесів, які нерідно завершуються незворотніми змінами окремих нейронів та цілих зон головного мозку. Тому все це вимагає якомога більш швидкої діагностики та лікування мозкового інсульту. Згідно сучасних протоколів надання невідкладної допомоги при мозкових інсультах, досить важливим є швидка госпіталізація хворих, визначення типу (ішемічний або геморагічний) інсульту та невідкланне терапевтичне втручання. Саме за таких умов вдається спасти життя хворого, а також зберегти максимальну кількість клітин мозку та попередити пошкодження навколишніх нейронів.

Сучасний стан розвитку науки дозволив створити нові методичні підходи до вивчення молекулярних ланок патогенезу вогнищевої ішемії, в основі якого лежить концепція „порогового ішемічного кровотоку” [С.М. Віничук, М.М. Прокопів, 2006; В.О. Яворська, Ю.В. Фломін, 2010]. Згідно неї, навіть повна оклюзія мозкової судини не призводить до повного припинення кровопостачання головного мозку, яке деякий час забезпечується наявністю залишкового кровонаповнення та колатерального кровообігу. В подальшому поступове зниження об’ємної швидкості мозкового кровотоку супроводжується пригніченням синтезу білків в

нейронах головного мозку, активацією процесів анаеробного гліколізу. Ще більш виразне падіння мозкової перфузії викликає екстракцію кисню та глюкози з крові, а зниження кровотоку мозку до 40–50 % від нормального рівня призводить до пригнічення біоелектричної активності нейронів, що необхідно для збереження енергетичних запасів та іонного гомеостазу. На цьому етапі у хворого виникають вогнищеві неврологічні розлади. При критичному зниженні мозкового кровотоку до 12-10 мл/100 г за 1 хв. і менше (нижній ішемічний поріг), протягом 6-8 хв. виникають необоротні зміни електролітного гомеостазу, порушується структура нейронів, відбувається утворення осередків некрозу, формується зона інфарктного ядра, що клінічно проявляється виникненням ознак неврологічного дефіциту [К.-А. Hossman, 1994; В.К. Siesjo, 1992]. Навколо інфарктного ядра протягом перших годин існує пригранична ділянка, в якій кровотік складає близько 20-18 мл/100 г за 1 хв. (верхній ішемічний поріг). Такий рівень забезпечує збереження іонного гомеостазу нейроцитів біоелектричний потенціал при порушенні функції нейронів. Саме цю частину ішемізованого мозку називають „ішемічна напівтінь” або англійським терміном – пенумбра [К.-А. Hossman, 1994; Astrup J. Et al., 1977]. Клітини, які в ній знаходяться, можуть зазнати необоротних пошкоджень і приєднатися до інфаркту, або відновити нормальну життєдіяльність. З клінічної точки зору зона пенумбри і є основною точкою прикладання лікувальної дії, адже порушення функції нейронів у ній мають оборотний характер протягом обмеженого часу, сягаючи 3-6 годин. Саме такий часовий проміжок, коли клітини пенумбри зберігають здатність до зворотнього відновлення і називають „терапевтичне вікно”. Це проміжок часу, протягом якого лікування має найкращі можливості та ефективність. Через 6 годин з моменту розвитку перших неврологічних симптомів закінчується формування більшої частини інфаркту мозку, а через 24-48 годин зона мозкового некрозу мозку формується остаточно.

На мікроскопічному рівні, погіршення кровотоку викликає порушення транспорту електронів в мітохондріальному ланцюгу та окисного фосфорилування, виснаження продукції АТФ та порушення функції Na-K-АТФ-ази, що веде до збільшення надходження в нейрони  $\text{Ca}^{2+}$ . В результаті безкисневої деполяризації виникає вивільнення збуджуючих нейротрансмітерів, таких як глутамат, викликаючи нейрональну токсичність [J.C. Chavez, 2009.]. Пошкодження нервової тканини викликають також активні форми кисню (ROS), деривати арахідонової кислоти, оксиду азоту та цитокінів, що генеруються в цьому процесі. Все це приводить до розвитку запалення і подальшого компромісу мікроциркуляції. В патогенезі ішемічного ураження мозку значну роль відіграють також активація імунної системи та процесів апоптозу нейронів. Ці патологічні події не обов'язково відбуваються послідовно, хоча і пов'язані між собою, є «тригерними» один щодо одного, створюючи при цьому ланцюг зворотного зв'язку, який завершується нейрональним руйнуванням [B.K. Siesjo, 1992]. Некротичні зміни клітин основного вогнища мозкового інфаркту там, де гіпоксія найважча, зумовлені сильним виснаженням енергетичних ресурсів та клітинним розпадом. У ділянці ішемічної напівтіні, знаходяться клітини, яким ще не завдано непоправної шкоди, і їх потенційно можливо врятувати, оскільки в цій ділянці гіпоксія менш серйозна завдяки наявності колатерального кровотоку, а клітини пенумбри піддаються апоптотичному каскаду [R.M. Friedlander, 2003]. Отже, захист нейронів ішемічної напівтіні і профілактика неврологічного дефіциту є основною метою нейропротекторної терапії, що спрямована на зменшення інтенсивності каскаду пошкоджуючих медіаторів, що викликає ішемічний інсульт [D.J. Gladstone, 2002]. Інгібування молекулярних механізмів, що лежать в основі ішемічного каскаду було визнано найважливішою мішенню для лікування ішемічного інсульту.

У короткий проміжок часу з моменту виникнення гострої церебральної ішемії до формування інфаркту мозку відбуваються складні патобіохімічні та

патофізіологічні процеси. Зокрема, однією з головних причин загибелі нейронів у зоні пенумбри може бути глутаматний каскад [А. Brassai et al., 2015]. Глутамат є збуджуючим медіатором і міститься в багатьох нейронах мозку. Надмірне накопичення глутамату і споріднених із ним сполук може привести до загибелі нейронів мозку внаслідок каскадних реакцій, які формують послідовні етапи пошкодження тканин мозку:

- 1 етап – зниження мозкового кровотоку;
- 2 етап – надмірне виділення нейронами глутамату (глутаматна ексайтотоксичність);
- 3 етап – унаслідок зв'язування глутамату з рецепторами N-метил-D-аспартату (NMDA) відкриваються кальцієві канали, виникає внутрішньоклітинне накопичення  $Ca^{2+}$ , нейрони набирають також натрію і осмотичним шляхом воду, порушується механізм синаптичної передачі, який носить зворотній характер;
- 4 етап – збільшується активність внутрішньоклітинних ферментів, які підвищують чутливість до глутамату та інших збуджуючих стимулів;
- 5 етап – підвищення синтезу оксиду азоту й розвиток оксидативного стресу;
- 6 етап – експресія генів;
- 7 етап – віддалені наслідки ішемії, зокрема, реакція місцевого запалення, поглиблення порушень мікроциркуляції, утворення тромбів та розповсюдження ішемії, ураження ГЕБ;
- 2-8 етапи – апоптоз. Отже, формування інфаркту мозку відбувається за двома механізмами: некротичної загибелі клітини та апоптозу – генетично запрограмованої смерті.

Питання біохімічних механізмів пошкодження мозку при інсульті залишаються предметом інтенсивного наукового пошуку. Так, в роботі [F. C. Choy, 2015] показано, що нейрональний Per-Arnt-Sim домен білка 4 (Npas4) є залежним від активності фактора транскрипції, експресія якого активується при мозкових інсультах, в тому числі ішемічного генезу. Автором було показано, що Npas4 відіграє нейропротекторну роль при ішемічному інсульті,

а також може бути залучений до модуляції апоптозу клітин та нейрозапаленні. Модуляції Nras4-залежних апоптотичних і запальних шляхів може привести до розробки нових методів лікування інсульту.

***Сучасні підходи до фармакотерапії патологічних уражень головного мозку.***

Лікування при ішемічному інсульті на госпітальному етапі має відповідати міжнародним рекомендаціям [AHA/ASA GUIDELINE, 2018], а також відповідати Клінічному протоколу надання медичної допомоги хворим на ішемічний інсульт згідно з наказом Міністерства охорони здоров'я (МОЗ) України від 03.08.2012 р. № 602 і включати як загальні, однакові для всіх МІ, так і диференційовані (патогенетичні) підходи до лікування, а також профілактику ускладнень.

Найбільш перспективним напрямком терапії ішемічного інсульту є:

- покращання перфузійного тиску в судинах мозку (вплив на 1 етап каскаду);
- вплив на 2-8 етапи глутаматного каскаду, зокрема, застосування нейропротекторної терапії.

Найбільш перспективним є поєднання цих двох напрямків, які перекривають процеси некрозу та апоптозу. Велике значення мають ранні строки початку лікування в перші 3-6 годин після розвитку інсульту у межах так званого „терапевтичного вікна” На довгостроковий прогноз функціонального стану хворого з інсультом впливають наступні параметри: час, що пройшов від початку інсульту до початку специфічної терапії; оцінка і корекція клінічних показників, що впливають на функціональний результат (АТ, температура тіла, глюкоза крові); діагностика і лікування екстрацеребральної патології. [Зозуля І.С., та співавт., 2015]. Ведення гострого періоду ішемічного інсульту включає базисну терапію і диференційоване лікування в умовах блоку інтенсивної терапії. Серед основних напрямків лікувальної тактики виділяють, насамперед, внутрішньовенний тромболізис, який є єдиним видом фармакотерапії, що має доведену клінічну ефективність і рекомендований

для використання при ішемічному інсульті та інфаркті в розвинених країнах, але обмеження, пов'язані з цим втручанням, підкреслюють необхідність розробки альтернативних підходів. Іншою стратегією є використання цитопротекторів, що можуть зменшити пошкодження мозку та серця при вогнищевій ішемії. До важливих потенційних переваг цитопротекторів належить можливість більш раннього їх введення (наприклад, на догоспітальному етапі) та подовження тривалості «терапевтичного вікна».

Інтенсивна терапія мозкового інсульту проводиться згідно світових рекомендацій щодо надання допомоги хворим з гострим ішемічним інсультом [The European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee and the ESO Writing Committee. Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack, 2008; та Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association, 2018] і включає в себе:

- корекція та стабілізація життєво-важливих функцій;
- специфічна терапія: реканалізація закритої судини або попередження розвитку процесів, що приводять до загибелі нейронів в ішемізованій тканині головного мозку (нейропротекція);
- профілактика і лікування ускладнень: неврологічних (вторинна геморагія, набряк мозку, судоми) або терапевтичних (аспірація, інфекції, пролежні, тромбоз глибоких вен кінцівок, тромбоемболія легеневої артерії);
- вторинна профілактика раннього повторного інфаркту мозку;
- рання реабілітація.

Нейропротекція — це відносно новий напрямок лікування інсульту, про що свідчить дуже обмежена кількість статей на цю тему, які побачили світ до 1990 р. Однак в останні десятиліття число публікацій швидко зростає, зокрема за останні 5–6 років було надруковано понад 21000 експериментальних та близько 1000 клінічних робіт. Прогрес у цій галузі

науки залежить від розуміння патофізіології вогнищевої церебральної ішемії (ВЦІ) та успіхів фундаментальних досліджень. За останні десятиріччя було створено надійні та добре контрольовані тваринні моделі ішемії та системи *in vitro*, достатньо повно охарактеризовано цитопатологію ішемічного пошкодження, вивчено біохімічні та молекулярні процеси. Всі ці досягнення створили добре підґрунтя для плідного розвитку нейропротекції при ішемічному інсульті [M.D. Ginsberg, 2008].

Нейропротекторами називають лікарські засоби, що зменшують пошкодження та запобігають загибелі нейронів головного мозку в умовах гострої церебральної ішемії чи в постреперфузійний період інсульту, а також сприяють покращанню неврологічного статусу, швидшому регресу неврологічного дефіциту та поліпшенню когнітивно-мнестичних функцій у хворих, які перенесли гостру судинно-мозкову катастрофу (інсульт, транзиторну ішемічну атаку), черепно-мозкову травму та при хронічній цереброваскулярній недостатності і нейродеструктивних захворюваннях ЦНС різного генезу (енцефалопатія, судинна деменція, хвороба Альцгеймера тощо).

Як зазначає В.Й. Мамчур та співавт. (2008), нейропротекція спрямована на збільшення часу виживання нейронів в умовах токсичного і/або ішемічного ураження. Своєчасне втручання у процес формування ішемічного каскаду за умов застосування нейропротекторних засобів може попередити або сповільнити процеси, що приводять до загибелі нейронів в ділянці ішемізованої тканини мозку [В.Й. Мамчур, 2008]. Експериментальними та клінічними дослідженнями було доведено, що раннє застосування нейропротекторних лікарських засобів дозволяє зменшити частку транзиторних ішемічних атак та «малих» інсультів серед ГПМК, значно зменшити розміри інфаркту мозку, продовжити період «терапевтичного вікна», і як наслідок – суттєво збільшити можливості тромболітичної терапії та захист мозку від реперфузійного ураження [В.Й. Мамчур, 2008; M.D. Ginsberg, 2008]. В аналітичному огляді, присвяченому механізмам

пошкодження мозку при вогнищевій церебральній ішемії та результатам досліджень нейропротекції, **В.О. Яворська та Ю.В. Фломін** (2010) зазначають, що нейропротекцію можна розглядати у широкому та вузькому сенсі. В широкому сенсі нейропротекція - це здійснення будь-яких заходів, що спрямовані на зменшення нейрональних втрат при ішемічному інсульті (наприклад, реперфузія, боротьба з гіпертермією та/або гіперглікемією, застосування антитромботичних засобів, профілактика ускладнень тощо). Більш вузьке тлумачення терміну нейропротекції передбачає втручання, що діють безпосередньо на клітини мозку (цитопротекція) і можуть відігравати самостійну роль у лікуванні ішемічного інсульту [А.В. **Singhal**, 2005]. Ginsberg дає таке визначення нейропротекції: «...стратегія або комбінація стратегій, що протидіють, припиняють або гальмують шкідливі біохімічні чи молекулярні події, які б інакше призвели до необоротного ішемічного пошкодження» [М.Д. **Ginsberg**, 2008].

Сучасні уявлення про механізми розвитку ішемічного каскаду та роль і місце нейроцитопротекторних засобів дозволяють також виділити первинну та вторинну нейропротекцію. Первинна нейропротекція спрямована на переривання швидких реакцій глутамат-кальцієвого каскаду, вільнорадикальних механізмів. Вона починається з перших хвилин ішемії та триває протягом перших 3 днів інсульту, тоді як вторинна нейропротекція спрямована на зменшення виразності віддалених наслідків ішемії, тобто на блокаду вивільнення прозапальних цитокінів, молекул клітинної адгезії, гальмування прооксидантних ферментів, покращення метаболічних процесів в ішемізованому мозку та гальмування апоптозу. Така нейропротекція повинна бути розпочата через 3-6 годин після розвитку інсульту та тривати щонайменше 7 днів [Е.И. **Гусев, В.И.Скворцова** 2001].

Роботи останніх років містять рекомендації, які уточнюють точки прикладання нейропротекторної терапії [В.И. **Черний**, 2008], серед яких можна виділити наступні:



- Корекція енергетичного обміну шляхом зниження пошкоджуючої дії гіпоксії і зменшення енергетичних потреб нейронів;
- Стимуляція окисно-відновних процесів і посилення утилізації глюкози;
- Гальмування процесів ПОЛ;
- Стимуляція системи нейротрансмітерів і нейромоделюляторів;
- Гальмування вивільнення збуджуючих медіаторів (глутамат, аспарат), що виявляють ексайтотоксичну дію.

Ідеальний нейропротектор повинен впливати одночасно на декілька ланок ушкодження головного мозку при ішемії. Однак, зазвичай, за допомогою однієї молекули з певним механізмом дії навряд чи вдасться істотно вплинути на сукупність складних патологічних процесів при ішемічних ураженнях головного мозку та інших органів. Тому пошук нових сполук, придатних для створення на їх основі лікарських засобів з вазоактивною та органопротекторною діями є актуальним та сучасним.

Протягом останніх тридцяти років проведені тисячі досліджень сотень потенційних нейропротекторів [С.М.Вінничук, 2006; В.В. Шведський 2011; О.Л. Побережець, 2007]. Доклінічні дослідження продемонстрували ефективність багатьох із цих засобів на моделях ішемії [Л. А. Белова, 2015]. Проте результати клінічних досліджень виявились негативними і до базових рекомендацій Американської асоціації інсульту (ASA) та Європейської ініціативи проти інсульту (EUSI) жоден із них не увійшов.

Причини неефективності клінічних досліджень застосування нейропротекторів, особливо тих, які виявляють позитивний ефект в експериментах на тваринах, можна пояснити деякими моментами, які зумовлені особливостями проведення експериментальних досліджень, а також і недоліками проведення клінічних трайлів [Яворська В.О., та Фломін Ю.В. (2010) Черний В.И. 2015]:

- в експерименті підбір тварин та дизайн експерименту зазвичай, стандартизовані, тварин відбирають за принципом генетичної однорідності, тоді як у хворих можуть бути істотні генетичні відмінності.

- експериментальні втручання проводять на тлі «соматичного благополуччя» тварин, що формує монофакторну патологічну ситуацію, тоді як хворі з інсультом зазвичай мають похилий вік і численні супутні захворювання, а їх лікування проводиться в дуже різних умовах;
- зазвичай доклінічні дослідження є неповними (невелике число тварин, спрощене оцінювання результатів, відсутні порівняння й відбір найбільш дієвих втручань, лікування не проводиться в різних лабораторіях, багатьма дослідниками, на різних моделях інсульту тощо);
- існують суттєві відмінності у будові та функціях мозку лабораторних тварин різних видів, а також головного мозку людини (наприклад, ішемічний каскад, що виникає за пошкодження мозку, насправді обмежений сірою речовиною. Натомість у білій речовині, що становить лише 10 % мозку гризунів, але близько 50 % мозку людини, навпаки, переважає дисфункція іонних каналів), тому екстраполяція результатів експериментів на клінічні ситуації є проблематичною;
- моделі інсульту лише приблизно відбивають реальну клінічну ситуацію, і для вивчення різних підтипів та локалізації інфаркту, ймовірно, слід використовувати різні моделі;

Серед головних причин незадовільних результатів були недоліки у рандомізації хворих. Крім урахування статі, віку, типу, локалізації вогнища інсульту, наявності супутньої соматичної патології, необхідно враховувати тривалість захворювання та особливості враження мозку, характер змін реологічних та коагуляційних властивостей крові, наявність ознак ураження судин та тип центральної гемодинаміки ступінь виразності енцефалопатії та інших факторів, що передували інсульту (травма, інтоксикації, тривала гіпоксія тощо). Крім того, в організації клінічних випробувань мають місце етичні проблеми, а саме: врахування співвідношення користь-ризик у людей часто не дозволяє досягти достатньої для реалізації нейропротективної дії та концентрації препарату в крові в зв'язку з існуванням суттєвих побічних ефектів; оцінка ефективності нейропротективної терапії не може

проводитись в режимі монотерапії, необхідно комбінувати її з тромболізисом, а також з усім необхідним обсягом симптоматичного базисного та відновлювального лікування.

Також заслуговують на увагу такі аспекти [M. Fisher 2004; M.Fisher, 2006]: в експериментальних дослідженнях більш чітко дотримується оптимальний час початку нейропротективної терапії (терапевтичне вікно), що не завжди є можливим в клінічних дослідженнях; не слід відкидати необхідність враховувати фармакокінетичні особливості дії нових потенційних препаратів з нейропротекторною дією (пошук оптимальної дози та схеми лікування з урахуванням особливостей, що можуть бути при інсульті) та фармакодинаміці (крім концентрації в плазмі, необхідно досліджувати концентрацію в лікворі та позаклітинній рідині мозку) лікарських засобів.

Все вищезазначене переконливо свідчить, що питання високоефективного нейропротекторного засобу, який впливає одночасно на різні ланки патогенезу ішемічного враження головного мозку та водночас є безпечним для хворого, ще далеко від свого вирішення.

Існуючі на сьогоднішній день основні напрямки нейропротекції та засобів можна представити в наступній схемі:

#### НЕЙРОПРОТЕКЦІЯ:

- Первинна (тромболізис)
- Вплив на NMDA-рецептори
- Вторинна
  - антиоксидантна терапія
  - гальмування місцевої запальної реакції
  - покращення трофіки мозку
  - нейроімуномодуляція

Дослідники запропонували величезну кількість засобів, що діють на ту чи іншу ланку патогенезу ВЦІ — від отрути малайзійської гадюки і

традиційних напоїв Полінезії до старого часнику і пептидів морського равлика. У цілому при ВЦІ вивчали 1026 лікарських засобів (912 досліджували тільки на тваринах, 97 — на тваринах і на людях і 17 — тільки на людях) [V.E. O'Collins, 2006]. Згідно з базою даних Internet Stroke Center, вже завершено або ще тривають близько 165 клінічних випробувань засобів та стратегій нейропротекції; основні нейропротектори, що привернули увагу дослідників, наведено в табл. 1 [M.D. Ginsberg, 2008; R. Sacco, 2007; B.O. Яворська 2010; R.S. Pandya, M. Zhang, 2009].

#### Основні групи потенційних нейропротекторів

Група	Представники	
	Використовуються в клініці	Розробляються
Блокатори кальцієвих каналів	Німодипін, нікардипін, флунаризин	
Сполуки, що утворюють хелати з кальцієм		DP-b99
Модулятори канабіноїдних рецепторів		Антагоніст канабіноїдних CB <sub>1</sub> рецепторів SR141716A Агоніст канабіноїдних CB <sub>2</sub> рецепторів O-1966
«Пастки» для вільних радикалів/антиоксиданти	Ебселен, тирилізид, вітамін Е, вітамін С, емоксипін, мексидол, цитофлавін, реамберин	
Антагоністи GABA-рецепторів	Клометіазол	
Антагоністи глутамату	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Блокатори NMDA-рецепторів: селфотел, аптиганел (Церестат), декстрофан, декстрометорфан, магнію сульфат, мемантин, ремацемід,</li> <li>• Антагоністи гліцинового сайту: гавестинел</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Блокатори NMDA-рецепторів: CP-101, 606, МК-801, NPS 1506.</li> <li>• Блокатори AMPA-рецепторів: GYKI-52466, NBQX, YM90K, YM872, ZK-200775 (MPQX)</li> <li>• Блокатори кайнатних</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Антагоністи поліамінових сайтів: еліпродил, іфенпродил</li> </ul>	рецепторів: SYM 2081 <ul style="list-style-type: none"> <li>• Антагоністи гліцинового сайту: ACEA 1021</li> </ul>
Фактори росту та їх аналоги	Церебролізін, лужний фактор росту фібробластів	
Інгібітори адгезії лейкоцитів	Енлімомаб,	Hu23F2G
Антагоністи опіатів	Налоксон, налмефен	
Прекурсори фосфатидилхоліну	Цитиколін	
Агоністи серотоніну	Піклозотан, репінотан	
Блокатори натрієвих каналів	Фосфенітоїн, лубелузол,	619C89
Агоністи натрієвих каналів		BMS 204352
Інгібітори оксиду азоту	Лубелузол	
Антиапоптичні засоби	Мелатонін, нікотинамід, еритропоетин, ацетамінофен, баікалеїн, аміногуанідин	
Протизапальні засоби	Меланокортини, 6-меркапропурін	IFN- $\beta$ ,
Засоби, що попереджують ексайтотоксичність	Сурамін, мефенамова кислота, нортриптилін, мемантин, вальдекоксиб, фебрамат, діазепам, ресвератрол,	YM-202074, NBQX
Гормональні засоби	Естрогени (естрон), прогестерон	
Засоби з політропною дією або невідомим механізмом	Рацетами, лубелузол, вінборон, альбумін, кофеїнол, гіпотермія, телмісартан, міноциклін	PAN-811, G-CSF

Відсутність ефективного лікування продовжує сприяти пошуку нових молекулярних мішеней при пошкодженні ішемії-реперфузії. Недавні клінічні дослідження показали ефективність застосування низькомолекулярних

інгібіторів гістондеацетилаз (HDACs) в умовах церебральної і кардіальної ішемії [S.E. Aune, 2015]. Результати експериментальних досліджень показали, що інгібітори HDAC можуть викликати фармакологічну «підготовку», так зване «пре-кондиціювання» нейронів проти ішемічного пошкодження через дерепресію транскрипції [C.L. Gibson, 2010; B. Langley, 2009]. Ці дослідження також показують, що фармакологічне інгібування P<sub>II</sub> HDAC ізоформ класу I / (так звані «пан-інгібітори») сприяють виживанню стресованих нейронів, що може свідчити, що каталітично неактивні ізоформи P<sub>I</sub> можуть сприяти виживаності клітин головного мозку при ішемії-реперфузії. Таким чином, інгібітори HDAC можуть бути перспективними для лікування пацієнтів з високим ризиком розвитку інсульту або серцевого нападу, а також для пацієнтів, що перенесли хірургічне втручання на серці або головному мозку.

Невдалі спроби численних клінічних випробувань екзогенних потенційних нейропротекторів спонукає до активного пошуку ендогенних захисних механізмів, що виникають в головному мозку після ішемії, і які дадуть змогу бути використаними за умов мозкових інсультів. [U. Dirnagl, 2003; J.M. Gidday, 2006; G. Pignataro, 2009]. За цих умов *ішемічне пре- та посткондиціювання* представляють два багатообіцяючих напрямки модулювання ішемічних уражень. Нейропротективна концепція *прекондиціювання* базується на результатах спостережень, що короткочасний епізод ішемії, який не має пошкоджуючого впливу, може захищати в подальшому головний мозок від більш серйозних мозкових подій [U. Dirnagl, 2003.]. Молекулярні механізми, які індукують ішемічну толерантність в головному мозку, є складними і залишаються в основному, невизначеними. Однак деякі дослідження продемонстрували, що в цих процесах приймають участь активація протеїнкіназ [C. Lange-Asschenfeldt, 2004; M.A. Perez-Pinzon, 2005], індукція факторів транскрипції [I. Ginis, 2002; N.M. Jones, 2001; M. Digicaylioglu, S.A. Lipton, 2001] і індукція генів раннього реагування [E. Rybnikova, 2005; A. Patel, 2004]. Виявлено також,

що індукція за умов прекодиціювання вільних радикалів кисню, також може викликати ішемічну толерантність [А. Ravati, 2000] через синтез нейропротективних білків, таких як білки теплового шоку 72 [S.M. Massa, 1996; R. Rejda, 2001], антиапоптотичні білки (лімфома В-клітин 2 типу) [А.М. Rambrink, 2000], а також через стимуляцію антиоксидантних ферментів, таких як СОД, ГПО, каталаза та ін. [Т. Toyoda, 1997; J.W. Arthur 2004]. Крім того, було також висловлено припущення, що нітроген монооксид (NO) може посилювати внутрішньоклітинний сигналінг, який активується в нейронах під час аноксичного прекодиціювання [М. Gonzalez-Zulueta, 2000; P.L. Huang, 2004]. В подальших дослідженнях на моделях ішемії головного мозку *in vitro* и *in vivo* було встановлено взаємозв'язок між мітохондріальною функцією, збереженням енергетичного обміну та нейропротекторним ефектом при аноксичному прекодиціюванні [K.R. Dave, 2006; M.A. Perez-Pinon, 2005]. А саме, ішемічне прекодиціювання сприяло збереженню енергетичного метаболізму і функції мітохондрій під час ішемічних подій [M.A. Perez-Pinon, 2005]. Встановлено, що прекодиціювання викликає також зміни внутрішньоклітинного іонного гомеостазу та енергетичного метаболізму, зокрема, попереджає інгібування  $K^+-Na^+$  АТФ-ази ішемізованих ділянок мозку [А.Т. de Souza Wyse, 2000] та глутамат-кальцієвого каскаду.

На відміну від ішемічного прекодиціювання, нейропротекторная стратегія, що має назву ішемічне *посткодиціювання* є відносно новою концепцією [G. Pignataro, 2007]. Швидка ревазуляризація оклюзованих судин і своєчасна реперфузія є одним з найбільш ефективних підходів для лікування гострого ішемічного інсульту. Проте, неодноразово показано, що на ранній стадії реперфузії надмірна генерація активних форм кисню та перевантаження клітин  $Ca^{2+}$  можуть сприяти додатковому ушкодженню мозку [S. Kuroda 1997]. У спробі послабити ушкоджуючий вплив раннього відновлення кровообігу після реперфузії, запропоновано новий підхід, що зветься ішемічним «посткодиціюванням», сутність якого полягає в

повторюваній серії короткотривалих періодів реперфузії, яка застосовується відразу після ішемії. Здатність повторних циклів короткої реперфузії і реоклюзій зменшувати розмір інфаркту після ішемії серця, були продемонстровані як в експериментальних [Z.Q. Zhao, 2003], так і в клінічних умовах [P. Staat, 2005]. В подальшому в дослідженнях на гризунах було показано, що ішемічне посткондіціювання послаблює нейрональне пошкодження ішемічних уражень спинного мозку [X. Jiang, 2006], локального [G. Pignataro, 2007.] і глобального [J.Y. Wang, 2008.] ішемічного ушкодження. В механізмах нейропротекторної дії посткондіціювання відіграє роль вплив на різні білки, що беруть участь в транспорті іонів через плазматичну мембрану, G-протеїн зв'язані мембранні рецептори, і кіназні шляхи тощо.

Посткондіціювання є нейропротективною стратегією, яка була добре вивчена для ішемічних подій, коли період реперфузії є контрольованим або зменшеним [A. Sang, 2005]. Фармакологічні посткондіціювання, як стратегія захисту від відстроченої загибелі нейронів, інтенсивно вивчається в останні роки [T. Scartabelli, 2008; V. Danielisova, 2009; D. Nagy, 2011; W. Zhang, Y. Miao, 2011;]. Основні шляхи захисту клітин, активовані посткондіціюванням є - принаймні частково - ідентичними тим, які активуються під час прекокондіціювання. Проте, посткондіціюванням має безперечну перевагу, оскільки може бути застосованим після інсульту. Кілька досліджень обговорювали основні підходи до посткондіціювання і показали два основні методи, як це може бути досягнуто: 1) швидке посткондіціювання, коли переривання реперфузії відбувається в межах від декількох хвилин до години після травми [H. Zhao, R.M. Sapolsky, 2006; G. Pignataro, 2008], і б) відтерміноване посткондіціювання, коли лікування застосовується в межах годин або днів після розвитку інсульту [J. Burda, 2006; C. Ren, 2008].



## *Роль NMDA-рецепторів в розвитку ішемічних уражень головного мозку та нейропротекції*

Основною метою нейропротекції є руйнування або запобігання каскаду нейрофізіологічних та біохімічних змін, який відбувається протягом патологічних процесів ушкодження клітин мозку [Т.К. **McIntosh**, 1993; R.J. **Gagliardi**, 2000]. Вважається, що причиною виникнення ексайтотоксичності є підвищення концентрації глутамату під час синаптичної передачі, що призводить до загибелі нейронів [B.S. **Meldrum**, 2000]. Позаяк ексайтотоксичність пов'язана зі збільшенням позаклітинних рівнів глутамату, то можна думати, що антагоністи глутаматних рецепторів можуть бути використані в якості нейропротекторів [R.J. **Dempsey**, 2000].

Крім надмірної активації глутаматних рецепторів, було висловлено припущення, що дисфункції вивільнення і / або транспортування глутамату має місце при гострих і хронічних формах нейропатології, наприклад, церебральній ішемії [M.B. **Jorgensen**, 1982; M. **Tymianski**, 2011], черепно-мозковій травмі (ЧМТ) [A.J. **Baker**, 1993; A.I. **Faden**, 1989; S.S. **Koura**, 1998], а також при нейродегенеративних захворюваннях, таких як хвороба Паркінсона [M.C. **Boll**, 2011; L. **Chen**, 2011] і хвороба Альцгеймера [T. **Cassano**, 2012]. Участь ексайтотоксичності також обговорювалась при деяких психоневрологічних захворюваннях, наприклад, біполярних розладах [S.D. **Ginsberg**, 2012], шизофренії [B. **Moghaddam**, 2012], і депресії [G. **Sanacora**, 2008].

Надлишкова стимуляція глутаматних рецепторів може викликати різні шкідливі ефекти, такі як різке збільшення припливу  $\text{Ca}^{2+}$  або вивільнення оксиду азоту (NO) [A. **Lau**, 2010]. Встановлено, що саме надмірне входження іонів  $\text{Ca}^{2+}$  через N-метил-D-аспартат (NMDA) рецептори має важливе значення в розвитку глутаматергічної ексайтотоксичності [D.W. **Choi**, 1985].

Гіперактивація  $\text{Ca}^{2+}$ -проникного іонотропного глутаматного рецептора (iGluR) селективно активується через NMDA. Отже, рецептор

NMDA є відповідальним за загибель клітин, індуковану ексайтотоксичністю [T.W. Stone, J.I. Addae, 2002]. Вхідження  $\text{Ca}^{2+}$  також може приводити до активації токсичних каскадів, в тому числі активації катаболічних ферментів, таких як фосфоліпази, протеази або ендонуклеази (наприклад каспази і кальпаїнази) [M.R. Hynd, 2004]. Тим не менше, більшість іонів  $\text{Ca}^{2+}$  секвеструється в мітохондріях в результаті метаболічного ацидозу, пригнічення окисного фосфорилування, відкриття переходу пор, біоенергетичного колапсу і утворення вільних радикалів через порушення мітохондріального ланцюга перенесення електронів [S.W. Ryter, 2007; C.R. Boeck, 2013].

NMDA-рецептори представляють собою гетеромерні комплекси, що складаються з чотирьох субодиниць, кожна з яких містить різні ізоформи: GluN1, GluN2 (GluN2A-GluN2D) і GluN3 (GluN3A і GluN3B). Окремі субодиниці, що входять до складу NMDA рецепторів виявляють різні властивості щодо розподілу в головному мозку, властивостях, а також регуляції. Через різну структуру гетеромерних субодиниць, NMDA-рецептори мають неоднорідну функціональність і фармакологічні характеристики [X. Gonda, 2012]. NMDA-рецептори складаються в основному з форми GluN1 (чия присутність є обов'язковою), NR2A-D, і, в деяких випадках, NR3A або B-субодиниці. [G.E. Hardingham, 2009; S. Cull-Candy, 2001; S. F. Traynelis et al., 2010]. Інші, позасинаптичні NMDA рецептори, що містять GluN2B, асоціюються з ексайтотоксичністю, тоді як синаптичні NMDA рецептори, що містять GluN2A - асоціюються з трофічними ефектами цих глутаматних рецепторів, які відповідають за нейропротекцію [E.S. Vizi, 2013]. Склад субодиниці визначає фармакологію і інші параметри каналу комплексу рецептора-іон. Альтернативний сплайсинг деяких субодиниць, такі як NR1, додатково сприяє фармакологічними властивостями рецептора. Ступінь експресії різних субодиниць NMDA-рецепторів є різною як на периферії, так і в головному мозку. З цієї причини деякі автори пропонують

розробити антагоністи вибірково щодо певних субодиниць, таких як NR2B, який присутній переважно в лобній ділянці мозку [J.A. Kemp, 1999].

У первинній церебропротекції актуальним та сучасним є розробка препаратів, що володіють модульованим впливом на розвиток глутаматної нейротоксичності шляхом блокування надмірної активації NMDA-рецепторів. Антагоністи NMDA-рецепторів зменшують потік іонів  $Ca^{2+}$  в клітину через агоніст-залежні кальцієві канали. Вони обмежують ділянку інфаркту мозку, перш за все, за рахунок збереження живої зони ішемічної напівтіні. Можна припустити, що вони не дають можливості для запуску лавиноподібної реакції, яка призводить до "кальцієвої смерті" у "клітинах-сусідах".

Препарати, які впливають на NMDA-глутаматні рецептори, поділяються на конкурентні та неконкурентні блокатори. До першої групи належать AP-5, AP-7, CGS-19755 (селфотел), а до другої – мемантин, амантадин, кетамін, магнію сульфат, церестат, фенциклідин. Поруч із терапевтичним ефектом (обмеження зони некрозу) більшість антагоністів NMDA-рецепторів (наприклад, селфотел та церестат) викликають у хворих грубі побічні ефекти (галюцинації, порушення свідомості, пригнічення когнітивно-мнестичних функцій, гіперкінези, делірій та ін.), що стало підґрунтям припинення їх клінічного застосування [M.C. Grabb, D.W. Choi 2009].

Тому в останні роки ведеться інтенсивний пошук високоефективних та безпечних блокаторів NMDA-рецепторів. При цьому слід враховувати, що повна інактивація вказаних рецепторів *in vivo* призводить до поширеного апоптозу в ЦНС, що посилює нейродегенеративні процеси та блокує здатність клітин до виживання в умовах ішемії [B.P. Meloni, 2006, Y. Wang et al., 2010]. Зниження активності NMDA-рецепторів попереджає розвиток некрозу нервових клітин та пов'язану з апоптозом ексайтотоксичність. Беручи до уваги той факт, що фонова активність NMDA-рецепторів формує фізіологічний перебіг основних процесів у центральній нервовій системі,

ефективність може бути досягнута за рахунок, так званих, антагоністів NMDA-рецепторів зі швидкою кінетикою "блокади/деблокади". Таким чином, згідно з точкою зору W. Neuhaus et al., (2012). Такий препарат за рахунок швидкої блокади NMDA-рецепторів, перешкоджає наростанню глутаматної ексайтотоксичності, а з другого, під час наступної деблокади – забезпечує підтримання тих мінімальних концентрацій глутамату, які необхідні для реалізації життєво важливих процесів у головному мозку [W. Neuhaus et al., 2012]. Серед препаратів із зазначеним механізмом дії, звертають на себе увагу деякі похідні адамантану, зокрема мемантин – засіб для лікування судинної деменції, хвороби Альцгеймера та розсіяного склерозу. Цей препарат є неконкурентним антагоністом NMDA-рецепторів, що обумовлює церебропротекторну, ноотропну та протипарконсонічну дію [В. В. Никонов, И. Б. Савицкая, 2012].

Властивості неконкурентного антагоніста NMDA-рецепторів притаманні препаратам магнію. В експерименті на щурах та клінічній практиці продемонстрований нейропротекторний ефект магnezії сульфату в умовах гострої церебральної ішемії. Цілий ряд випробувань сульфату магнію при гострому ішемічному інсульті продемонстрували його безпечність, відсутність суттєвих побічних ефектів, зниження 30-денної летальності та покращення функціональних наслідків [В.И. Скворцова, 2004; В.Р. Meloni, 2006]. Однак більш масштабні клінічні дослідження не показали відмінностей між застосуванням магнію сульфату та плацебо за умов гострого ішемічного інсульту, що і стало підставою для вилучення цього препарату із рекомендацій Американської інсультної асоціації (ASA) [J.L. Saver, 2015; J.T. Kim et al., 2017].

Іншим антагоніста NMDA-рецепторів є кетамін. Перспективність його використання при ГПМК, що супроводжується коматозним станом, обумовлена не тільки його спроможність блокувати ефекти глутамату, але й в субнаркотичних дозах стимулювати ретикулярну формацію головного мозку. Використання кетаміну у хворих із порушеними функціями стовбуру

головного мозку супроводжується ознаками активації та/або синхронізації стовбурних структур та активації дієнцефальної формації. Цей ефект кетаміну є особливо цінним при коматозних станах, оскільки стимуляція ретикулярної формації та дієнцефальної ділянки супроводжується активацією нейронів підкіркових центрів та кори головного мозку. Стосовно антиглутаматного ефекту цього препарату показано, що кетамін та його метаболіт здатні неконкурентно блокувати NMDA-рецептори з високим ступенем афінності. Крім того, в експерименті кетамін здатен суттєво збільшувати стійкість клітин головного мозку до ішемії/аноксії [В. В. Никонов, И. Б. Савицкая, 2012, S. Shibuta, 2006].

Характерними рисами вторинних нейропротекторних засобів, придатних для терапії віддалених наслідків ГПМК, володіють препарати з ноотропною активністю (пірацетам, тіоцетам, фенотропіл), нейропептидні лікарські засоби, нейротрофічні та нейрореставратори (кортексин, семакс, церебралізін), а також антиоксиданти (мексидол та препарати янтарної кислоти, тіотриазолін) [А. Н. Кондратьев., 2009; Н.С. Сич, В.І. Боброва, І.С. Зозуля, 2009].

На сьогодні однозначної думки стосовно доцільності призначення пірацетаму в умовах ГПМК не існує. Згідно однієї позиції, пірацетам необхідно призначати для лікування інсульту як у гострому (у тому числі при комі), так і у відновному періоді. Початкова доза має складати в середньому 10 г/добу, підтримуюча – 4,8-2,4 г/добу. Однак, така позиція є дискутабельною, оскільки стан незалежно від глибини церебральної недостатності є протипоказанням для призначення будь-яких лікарських засобів, що мають стимулювальну дію (наприклад, ноотропів), тому що вони розгальмовують підкіркові структури, викликають психомоторне збудження чи судоми, ще більше пригнічуючи кору. Більш того, у літературі наведені дані, які вказують на те, що пірацетам у зоні пенубри підвищує явище нейродеструкції за рахунок зміщення рівноваги нейронекоз/нейроапоптоз у бік першого [А.А. Королев, Г.А. Сусллова, 2009; Рекомендации по веденню

больных с ишемическим инсультом и транзиторными ишемическими атаками (2008)].

Зважаючи на те, що в умовах швидкої та активної експресії генів, що кодують нейтрофіни (фактори росту), ішемія головного мозку може протягом тривалого часу не призводити до інфарктних змін, а значну роль у розвитку процесів ушкодження нервової тканини відіграє недостатнє трофічне забезпечення, репаративна терапія нейропептидними препаратами в умовах ГПМК набуває важливого значення вже починаючи з перших діб ішемії.

Нейропептиди володіють трофічними та модуляторними властивостями, що забезпечує їх регенераторно-репаративну дію. Створено низку нейропептидів (церебролізин, кортексин, семакс та ін.), які з успіхом використовуються у випадках гострої церебральної недостатності [И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, М. А. Волошин, 2008; Heiss D., et al., 2012; Guekht V. et al., 2012].

Деякі лікарські засоби цієї групи, зокрема кортексин та церебролізин відзначаються високою ефективністю. Однак, суттєвий недолік цих препаратів полягає в тому, що для досягнення клінічного ефекту їх необхідно використовувати у значних дозах [По материалам Европейских симпозиумов 2008 г., посвященных использованию церебролизина, 2009; Т.В. Черний, И.А. Андропова, 2010], що є досить коштовним, оскільки нейропептиди є препаратами закордонного виробництва.

Оскільки згідно з концепцією патогенезу церебральної ішемії, велику роль у перебігу деструктивних змін нейронів відіграє оксидативний стрес, широке застосування у терапії ГПМК знайшли антиоксиданти (скавенджери) та препарати, що руйнують пероксиди [З.А. Китаєва, М.В. Сайхунов, Д.Р. Хасанова, 2009; Q. Ma, et al., 2011]. Протягом тривалого часу в Україні до складу інтенсивної терапії ГПМК включають природні антиоксиданти – вітамін Е та С. Однак дотепер не отримано переконливих даних стосовно їх ефективності. Перспективними антиоксидантами можуть бути препарати, що у своєму складі містять СОД, каталазу або глутатіон [Н. Rauchova, М.

Vokurlova, J. Koudelova, 2012]. Профілактичне введення рекомбінантної людської СОД, пом'якшує ішемічне пошкодження у монгольських піщанок, викликане двосторонньою оклюзією сонної артерії на 5 хв. [И.В. Зарубина П.Д.Шабанов, 2004]. У багатоцентровому випробуванні терапія поліетиленгліколь- кон'югованою СОД (пегорготеїн) не покращувала результати видужання хворих із тяжкою черепно-мозковою травмою у разі введення у межах 8 год після ушкодження [С.С. Kidwell, D.S. Liebeskind, S. Starkman, 2001]. Клінічне дослідження ефективності ферментативних антиоксидантів ускладнюється низкою причин: великим розміром молекул, що обмежує клітинну проникність, коротким періодом напівжиття, антигенними властивостями та високою вартістю [Z.V. Niatsetskaya et al., 2012].

Таким чином, клінічна ефективність антиоксидантів на даний момент є гіпотетичною, оскільки немає результатів багатоцентрових контрольованих досліджень, котрі показали зниження летальності при їх застосуванні. Цей феномен, певним чином, можна пояснити згідно теорії пре- та посткондиціювання, яка була описана у першій частині огляду.

В Україні для забезпечення вторинної церебропротекції широко використовують лікарські засоби, яким поряд із антиоксидантними властивостями притаманна сильна протигіпоксична та мембранопротекторна дії. Вищезазначені властивості у повній мірі притаманні препаратам створеним на основі бурштинової кислоти (мексидол, мексикор, реамберін, емоксипін, цитофлавін та ін.) [В.А. Яворская и др., 2010; Э.Ю. Соловьева, О.П. Миронова, О.А. Баранова, 2009]. Бурштинова кислота є дентальним метаболітом циклу трикарбонових кислот, за рахунок чого в умовах ішемічно-гіпоксичного враження нейронів прискорює протікання його реакцій [Е.Б. Лутошкина, Е.А. Сапина, И.И. Шоломов, 2009]. Аналіз літератури свідчить, що призначення мексидолу при ГПМК вірогідно поліпшує неврологічний статус пацієнтів з гострою церебральною ішемією, зменшує летальність хворих із судинною катастрофою. Однак, всі ці засоби

представлені на нашому ринку закордонними фармацевтичними компаніями, що віддзеркалюється у їх високій ціні.

Заслужує на увагу антиоксидант із багатовекторною направленістю, який було створено українськими науковцями. Мова йде про тіотриазолін. В умовах ГПМК він виявляє цілий комплекс органопротекторних властивостей, демонструючи класичні якості нейропротектора [В.А. Яворская и др., 2010; У.К. Каюмов, 2009; В. А. Яворская, 2006; М.А. Трещинская, Ю.Г. Головченко, 2007]. У подальшому, висока ефективність тіотриазоліну при ГПМК дала змогу створити комплексний комбінований препарат – тіоцетам [Черний Т.В., Андронova И.А., Черний В.И., 2010].

Згідно рекомендацій, які були розроблені комітетом Європейської інсультної організації ще у 2008 році, єдиним рекомендованим засобом із церебропротекторною направленістю дії для терапії хворих з ішемічним інсультом та транзиторними ішемічними атаками є цитиколін. Проте останні дані багатоцентрового дослідження не підтвердили його достатню ефективність при ГПМК [A. Davalos, et al., 2012]. Однак остаточного рішення стосовно подальшої долі й місця цього церебропротектора у терапії ГПМК ESO ще оголосив. Разом з тим дані літературних джерел останніх років доводять спроможність цитиколіну позитивно впливати на регрес неврологічного дефіциту та покращувати когнітивно-мнестичні функції у хворих із гострою церебральною ішемією, що також вплинуло на наш вибір [W.M. Clark, 2001; M. Clarke, 2007]. В Україні, згідно останніх клінічних настанов стосовно лікування хворих з ГПМК, схвалених Міністерством охорони здоров'я (наказ від 03.08.2012р. № 602), цитиколін є нейропротектором вибору із достатньою доказовою базою.

Отже, недостатня ефективність лікування глобальної церебральної ішемії потребує перегляду стратегії нейропротективної терапії: первинна нейропротекція має бути спрямована, в першу чергу, на відновлення реологічних властивостей крові, мікроциркуляції, ендотеліальної дисфункції, функціонального стану неврології та гематоенцефалічного бар'єру. Лише



після цього мають здійснюватися заходи вторинної нейропротекції, спрямованої безпосередньо на нейрони [M. Zhang et al., 2011].

Отже, резюмуючи наведені дані, можна зробити висновок, що незважаючи на постійне розширення арсеналу лікарських засобів за рахунок нових препаратів із захисною дією на ішемізований головний мозок, на сьогодні не створено ідеального церебропротектора для лікування гострої ішемії, який повною мірою задовольняв би потреби клініцистів. Теоретично, на сьогодні, існує достатньо потенційних можливостей фармакологічного впливу на основі ланки ішемічного каскаду. Однак, на жаль, при ГПМК переважна більшість рекомендованих лікарських препаратів виявляється ефективною лише *in vitro* та в умовах експерименту, але не в клінічних випробуваннях.

В деяких дослідженнях було продемонстровано залучення NMDA рецепторів в процесі ендогенної нейропротекції на різних моделях прекодиціювання за допомогою введення різних антагоністів, таких як МК-801 або кетамін [A. Bond, 1999; B. Schaller, 2002; M.O. Samoilov, 2003]. Незважаючи на досить ефективні результати експериментів, які доводять роль активації NMDA рецепторів в загибелі нейронів після ішемії, в клінічних випробуваннях не було знайдено підтвердження того, що антагоністи NMDA рецепторів здатні протидіяти негативному ходу подій, імовірно, через погану переносимість та / або ефективність [K.W. Muir, 2006]. Крім того, повне інгібування рецепторів NMDA, як було показано, є неефективними в клінічних випробуваннях [C. Ikonomidou, 2002]. З іншого боку, помірною активація NMDA рецепторів в якості прекодиціювання розглядається як більш ефективна клінічна стратегія.

Підвищення толерантності мозку до пошкодження може бути наслідком дії різних індукційних механізмів, таких як хімічних, електричних або аноксичних стимулів [U. Dirnagl, 2003]. Роль NMDA рецепторів як важливих факторів нейропротекції була чітко доведена при введенні

антагоністів NMDA- рецепторів, таких як МК-801 або кетамін [A. Bond, 1999; B. Schaller, 2002; M.O. Samoilov, 2003].

Дуальна функція NMDA, як потенційного нейропротективного агента, з одного боку, а також джерела ексайтотоксичності з іншого, обговорювалась в аспекті його активності щодо синаптичних і екстрасинаптичних сайтів [P. Vanhoutte, H. Bading, 2003]. Як відомо, екстрасинаптичні NMDA-рецептори (GluN2B) відіграють вирішальну роль в ексайтотоксичності тоді як синаптичні NMDA-рецептори (GluN2A) відповідають за нейропротекцію [E.S. Vizi, 2013].

NMDA-залежна нейропротекція була описана в численних наукових дослідженнях як на культурах клітин нейронів, так і *in vivo* [D.M. Chuang, 1992; B.G. Dickie, 1996; C.R. Boeck, 2004; T.C. Piermartiri, 2009]. Однак глибокі механізми розвитку цих станів ще далекі від остаточного вирішення. Аналіз численних даних літератури дає підстави вважати що підвищена збудливість, помірні ініціація оксидативного стресу, модуляція біоенергетичних процесів, іонний гомеостаз і модуляція глутаматергічної передачі в межах, які не досягають ексайтотоксичних рівнів включають в себе основні механізми для NMDA-опосередкованого прекондиціювання [L. Celso C., 2014].

Антагоністи **NMDA-рецепторів**, шляхом зв'язування з алостеричними сайтами на білках, які складають рецептор, закривають іонні канали, інгібують їх активність. Нейропротекторну дію виявляють наступні антагоністи NMDA-рецепторів [И.С. Евтушенко, 2013].

- а) низкоафінні антагоністи полиамінового сайта NMDA-рецепторів і часткові агоністи AMPA-рецепторів (мемантин, адемомол);
- б) агоністи AMPA-рецепторів (нооглютил);
- в) часткові агоністи AMPA-рецептора, а також ті, що посилюють вивільнення норадреналіну, дофаміну (риталін, модафініл, донепезил);
- г) коагоністи NMDA-рецептора (гліцин);

Незважаючи на великий арсенал сучасних церебропротекторів, проблема терапії ішемічного ушкодження мозку ще далека від свого вирішення. Це обумовлено як недостатньою ефективністю препаратів, так і наявністю у них побічних ефектів. Тому ведеться активний пошук нових молекул із захисною дією на ішемізований головний мозок, придатних для створення на їх основі нових більш ефективних та безпечних лікарських засобів для терапії мозкового інсульту, конкурентноспроможних із сучасними аналогами.

В цьому плані привертають увагу нові похідні адамантану, яким притаманний широкий спектр фармакологічних ефектів: нейропротекторний, активуючий вплив на метаболічні процеси, антиоксидантний, протигіпоксичний, протиішемічний, актопротекторний, тощо, які добре співставляються з патогенезом мозкового інсульту.

#### ***Фармакологічні властивості похідних адамантану***

Результати експериментальних робіт, що присвячені дослідженню церебропротекторної та антиамнестичної дії адамантилвмісних діамінів, які належать до класу блокаторів NMDA/AMPA-глутаматних рецепторів, свідчать, що деякі сполуки цього класу завдяки своїм антигіпоксичним властивостям та наявності модулювальної дії на процеси глутаматної ексайтотоксичності являють собою потенційну основу для подальшої розробки нейропротекторних засобів. Ключовим механізмом церебропротекторної дії є їх спроможність в умовах патоглогічної активації глутаматних рецепторів дисоціювати від субстрату каналів NMDA/AMPA швидше, ніж канал встигає закритися. У результаті повторюваних переходів активованого NMDA каналу в блоковану форму й назад середня тривалість пачок імпульсів, а отже й кількість перенесених каналом зарядів, зростає. Це дозволяє розглядати названі ліганди канального домену NMDA/AMPA-Rs швидше як потенціатори, ніж блокатори NMDA/AMPA-рецепторно-канальних ансамблів [А.В. Журавский, 2005].

Серед антагоністів NMDA-глутаматних рецепторів добре відомі амантадини. Вперше амантадин було запропоновано як противірусний засіб. У подальшому з'ясувалось, що він сприяє вивільненню дофаміну з нейронального депо, підвищує чутливість рецепторів до дофаміну, і навіть в умовах дефіциту останнього у базальних гангліях створює умови для нормалізації перебігу в них нейрофізіологічних процесів. Завдяки модулювальному впливу амантадину на NMDA- рецептори він знайшов своє застосування у терапії екстрапірамідних порушень при паркінсонізмі, дискінезій різного генезу (викликаних прийомом леводопи, нейролептиків тощо [Патент 53558]).

Амантадини існують у вигляді двох солей-сульфату та гідрохлориду. Серед амантадинів гідрохлоридів фармацевтична промисловість випускає мідантан, неомідантан, амантадин; сульфатів – ПК-Мерц. Амантадину сульфат та гідрохлорид схожі за своїми фармакодинамічними характеристиками, однак відрізняються за фармакокінетичними властивостями. Амантадину сульфат забезпечує більш стабільну концентрацію препарату в головному мозку, краще переноситься та викликає менше побічних ефектів [В. В. Никонов, И. Б. Савицкая, 2012].

Препарати на основі амантадину гідрохлориду (наприклад, мемантин) широко використовуються для лікування судинної деменції, хвороби Альцгеймера та розсіяного склерозу. Створено водорозчинну форму амантадину сульфату – препарат для інфузій ПК-Мерц. У теперішній час проводяться клінічні дослідження ефективності цього розчину при травматичному та судинному ушкодженні головного мозку [В. В. Никонов, И. Б. Савицкая, 2012].

У медицині надзвичайних станів як актопротектор тривалий час використовувалось інше похідне адамантану – бромантан (ладастен) [А.В. Курочка, А.С. Лосев, А.И. Елькин, 2005; М.И. Левина, 2005; И.С. Морозов, 2001]. Стимулювальна дія бромантану на фізичну працездатність супроводжується імуно- та психоактивуючим ефектами. Проте цей

актопротектор за спроможністю негативно впливати на фізіологічні та біохімічні процеси, а також маскувати прийом деяких інших стимуляторів фізичної активності, зарахований до допінгових препаратів та заборонений до вживання під час спортивних змагань [Р.Д. Сейфулла, Е.Д. Рожкова, Г.М. Родченков, 2009; **Самойлов** Н.Н., 2002; С. А. **Олейник**, Л.М. Гунина Р.Д. Сейфулла, 2010]. На сьогодні проводиться експериментальне дослідження ладастену в поєднанні з сіднокарбом збільшувати фізичну витривалість, також вивчаються фригопротекторні та анксиолітичні властивості такої комбінації. Друге похідне адамантану – хлодантан за своїми властивостями є адаптоген негайного типу дії, оскільки вже після першого введення підвищує стійкість тварин до несприятливої дії зовнішніх факторів [**Спасов** А.А., и др., 2000].

На кафедрі фармакології ВНМУ ім. М.І. Пирогова серед похідних адамантану, синтезованих в Інституті органічної хімії НАН України к.х.н. Ю.В. Коротким під керівництвом акад. М.О. Лозинського, виявлені речовини із виразною актопротекторною активністю, які за своєю ефективністю не поступались еталонному актопротектору бемітилу. Було доведено, що стимулювальна дія на фізичну витривалість в експериментальних умовах, головним чином, пов'язана з їх спроможністю покращувати перебіг біоенергетичних процесів, посилювати білоксинтетичні процеси в печінці та скелетних м'язах, нормалізувати показники оксидантно-антиоксидантної системи організму та наявності антигіпоксичного ефекту. Лідером за актопротекторною та антигіпоксичною активністю виявився 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (сполука ЮК-1) [О.П. **Лонська**, 2008].

У літературі відсутні дані стосовно наявності у 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду та його похідних церебропротекторних властивостей в умовах ГПМК, хоча є відомості, що він має ноотропну дію [С.В. **Сергеев** та ін., 2005].

Слід підкреслити, що окрім актопротекторних властивостей, 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид володіє утеротонічною дією, що стало підґрунтям для створення на основі цієї речовини нового лікарського засобу із вказаною дією під назвою "Адемо́л". Адемо́л зареєстровано в Україні. Реєстраційне посвідчення від 30.08.01 (субстанція) № Р.08.01/03548, від 26.03.01 (лікарська форма) № Р.03.01/02877. Адемо́л дозволено до застосування у якості лікарського засобу, що стимулює пологову діяльність (наказ МОЗ України від 10.12.01 № 484).

Структурно адемо́л є аналогом пропранололу. Крім цього, він володіє антихолінергічним ефектом, потенціює дію адреноблокаторів. Ґрунтовно досліджено та описано і утеротонічний ефект адемо́лу, який пов'язаний з його  $\beta$ -адреноблокуючою дією на міометрій. Поряд з цим, структурна подібність до пропранололу дає підставу сподіватись на вплив адемо́лу і на  $\beta$ -адренорецептори у серці [Пат. 53558; Пат. 58841].

Цінним є те, що у адемо́лу описаний анальгетичний та транквілізуючий ефекти [Л.М. Зайцев, Ю.В. Короткий, 1991; Короткий Ю.В., Лозинський М.О., Степанюк Г.І., [та ін.] 2002] , що значно розширює можливість його застосування у неврологічній практиці.

Відомо, що стрес є фактором, який запускає у організмі низку адаптаційних реакцій, дія яких скерована на підтримання гомеостазу. Однак на стадії декомпенсації, коли має місце зрив адаптації, стресогенні реакції індукують у нейронах головного мозку програму апоптозу. Критичного рівня ці процеси сягають при централізації кровообігу, що наприклад має місце при фатальному ГПМК.

Описані у літературі стреспротекторні властивості адемо́лу [О.П. Лонська, 2008] є бажаними і, на нашу думку, в умовах ГПМК можуть забезпечити реалізацію його можливої цитопротекторної дії.

Іншим не менш важливим механізмом, що може лежати в основі його захисної дії на ішемізований головний мозок, є вже описана його

антигіпоксична активність, зокрема на моделях гіпоксичної гіпоксії та гострої асфіксії [О.П. Лонська, 2008] .

Таким чином, враховуючи широкий спектр фармакологічних властивостей похідних адамантану, зокрема наявність антигіпоксичної, протиішемічної, анксиолітичної, адаптогенної, нейро- та термопротекторної дії, є всі підстави сподіватись на можливе відкриття серед речовин цього класу сполуки із виразною захисною дією на ішемізований головний мозок, придатну для створення на її основі нового церебропротекторного засобу, конкурентоспроможного з сучасними аналогами.

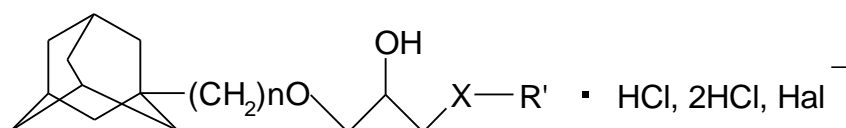
## РОЗДІЛ 2

СКРИНІНГ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ В РЯДУ  
НОВИХ ПОХІДНИХ АДАМАНТАНУ

Г.І.Степанюк, О.А.Ходаківський, Н.Г.Степанюк, Ю.В.Короткий

Для дослідження взято 70 оригінальних сполук похідних адамантанвмісних аміноспиртів, синтезованих в Інституті органічної хімії НАН України к.фарм.н. Ю.В.Коротким.

Загальна формула та структури найбільш активних сполук представлені на рис. 2.1.



де  $n = 2$ ,  $\text{X} = \text{морфолін}$ ,  $\text{HCl}$  (ЮК 1)

$n = 2$ ,  $\text{X} = \text{діетиламін}$ ,  $\text{HCl}$  (ЮК 4)

$n = 1$ ,  $\text{X} = \text{N-2-оксіетилпіперазин}$ ,  $2\text{HCl}$  (ЮК 53)

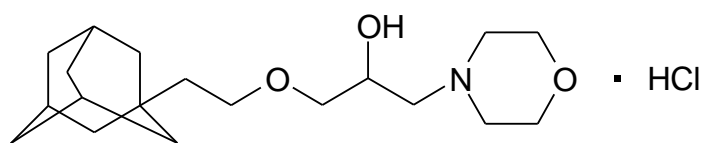
$n = 1$ ,  $\text{X} = \text{морфолін}$ ,  $\text{HCl}$  (ЮК 54)

$n = 1$ ,  $\text{X} = \text{діетиламін}$ ,  $\text{HCl}$  (ЮК 55)

$n = 2$ ,  $\text{X} = \text{піролідин}$ ,  $\text{R}' = \text{CH}_3$ ,  $\text{Hal} - \text{I}$  (ЮК 67)

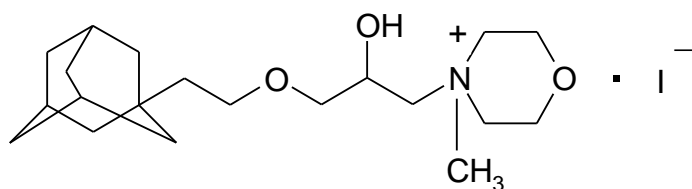
$n = 0$ ,  $\text{X} = \text{діетиламін}$ ,  $\text{R}' = \text{CH}_3$ ,  $\text{Hal} - \text{I}$  (ЮК 70)

$n = 2$ ,  $\text{X} = \text{морфолін}$ ,  $\text{R}' = \text{CH}_3$ ,  $\text{Hal} - \text{I}$  (ЮК 76)

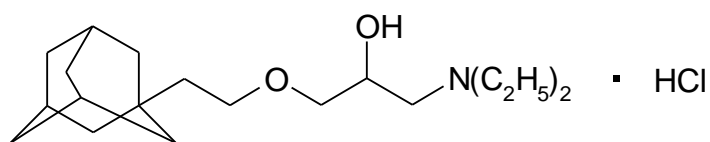


адемо́л (ЮК-1)

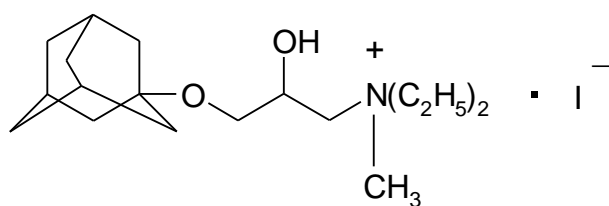




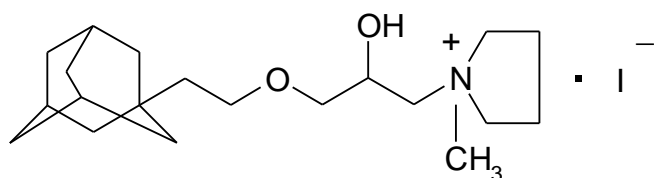
(ЮК-76)



(ЮК-4)



(ЮК-70)



(ЮК-67)

Рис.2.1. Принципова структура досліджуваних похідних адамантану

**Мета дослідження:** в ряду нових похідних адамантану виявити найбільш ефективні сполуки із захисною дією на ішемізований мозок, встановити залежність «структура-дія», охарактеризувати їх вплив на активність NMDA- рецепторів.

## *2.1. Профілактична ефективність адамантанів при експериментальному гострому порушенні мозкового кровотоку*

Класична концепція церебропротекції, яка існувала раніше та передбачала вплив на окрему ланку патогенезу ГПМК, сьогодні переглянута і визнана неспроможною. Нейропротекція, нейротрофічність, нейропластичність, нейрореставрація та ангиогенез розглядаються як нейробіохімічні процеси, які беруть участь у реалізації ендогенного захисту та репарації ішемізованої ділянки головного мозку (В.А. Яворская и др., 2010; И.С. Чекман и др., 2010; И.А. Мазур и др., 2007).

На наш погляд доцільно користуватися іншою концепцією, яка передбачає інтегративний фармакологічний підхід, що базується на застосуванні речовин з поліфункціональними ефектами та плейотропними нейропротекторними і нейрорепаративними властивостями, які добре вписуються в патогенез ГПМК [Г.І. Степанюк та ін., 2007; Г.М. Кушнір, А.А. Микляев, 2007].

Із великої кількості препаратів, які декларувались як нейропротекторні засоби, лише одиниці підтвердили свою високу захисну дію на ішемізований мозок у великих мультицентрових дослідженнях при монотерапії. Одним із таких препаратів є цитиколін [М.Ф. Исмаилов и др., 2009; В.В. Никонов и др., 2012; , В.И. Скворцова, 2008; В.А. Яворская и др., 2011]. Тому, враховуючи ці дані, в якості основного референтного препарату для оцінки ефективності досліджуваних адамантанів нами взято цитиколін. А для більш об'єктивної оцінки ступеню їх церебропротекторної дії в якості додаткового препарату- порівняння взято також мексидол, якому притаманна достатньо виразна нейропротекторна дія завдяки наявності у нього потужних антигіпоксичних властивостей, що цілком оправдовує його широке застосування в клініці для лікування хворих з церебральною ішемією (И.А. Мазур и др., 2007; W.M. Clark et al., 2001).

ГПМК моделювали у щурів в умовах пропофолового (60 мг/кг) наркозу шляхом білатеральної каротидної оклюзії (БКО). Згідно з точкою зору

провідних експериментаторів, які займаються проблемою захисту ішемізованого мозку (И.С. Чекман и др., 2010; І.Ф. Беленічев та ін., 2006), модель білатеральної каротидної оклюзії (БКО) є найбільш адекватною до клінічної картини ішемічного інсульту і тому є придатною для виявлення та дослідження речовин з церебропротекторними властивостями. Зважаючи на це, нами обрана саме ця модель гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК) для скринінгу захисного ефекту на головний мозок в ряду нових похідних адамантану.

Кожну сполуку тестували на групі тварин (n=7-10) у дозі 5 мг/кг, яку вводили в очередину за 30-40 хв до відтворення патологічного стану. Дана доза, згідно з даними літератури [О.П.Лонська, 2008], забезпечує достатньо виразну антигіпоксичну та актопротекторну дію сполук цього ряду. Референс-препарати мексидол (100 мг/кг) та цитиколін (250 мг/кг) вводили групам тварин аналогічно.

Ступінь захисного ефекту досліджуваних сполук та референс-препаратів оцінювали за їх спроможністю знижувати (у %) показник летальності тварин у критичний період експерименту, коли в групі контрольних (нелікованих) щурів смертність становила більше 50%. Щурі даної групи (n=60) отримували аналогічно еквіоб'ємну кількість 0,9% розчину NaCl.

В табл. 2.1. представлено результати дослідження найбільш ефективних похідних адамантану, які за величиною захисного ефекту на ішемізований мозок щурів не поступались референс-препаратам, або наближались до них. Решта досліджуваних сполук за ступенем церебропротекторного ефекту поступались цитиколіну та мексидолу або виявились не ефективними в умовах БКО, тому не брались до уваги.

Нами встановлено, що критичним періодом для контрольних щурів з ГПМК виявилась 12 год експерименту, коли показник летальності становив 60%.

Таблиця 2.1.

**Вплив найбільш ефективних похідних адамантану та препаратів-порівняння на летальність щурів з двобічною оклюзією сонних артерій на 12 год спостереження**

№ п/п	Умови досліджу	Доза, мг/кг	n	Показник летальності в групі тварин, %
1.	0,9 % р-н NaCl, 2 мл/кг + ГПМК	-	60	60
2.	Мексидол + ГПМК	100,0	10	20*
3.	Цитиколін + ГПМК	250,0	10	0*
4.	ЮК – 1(адемола) + ГПМК	1,0	10	20*
5.	ЮК – 1(адемола) + ГПМК	2,0	10	0*
6.	ЮК – 1(адемола) + ГПМК	5,0	10	20*
7.	ЮК – 4 + ГПМК	1,0	10	20*
8.	ЮК – 4 + ГПМК	2,0	10	20*
9.	ЮК – 4 + ГПМК	5,0	10	10*
10.	ЮК – 53 + ГПМК	5,0	10	20*
11.	ЮК – 54 + ГПМК	5,0	10	20*
12.	ЮК – 55 + ГПМК	5,0	10	20*
13.	ЮК – 67 + ГПМК	5,0	7	14,2*
14.	ЮК – 67 + ГПМК	10,0	7	14,2*
15.	ЮК – 70 + ГПМК	5,0	7	14,2*
16.	ЮК – 70 + ГПМК	10,0	7	28,6*
17.	ЮК – 76 + ГПМК	5,0	7	14,2*
18.	ЮК – 76 + ГПМК	10,0	7	0*
19.	ЮК – 76 + ГПМК	20,0	7	14,2*

Примітка: \* -  $P \leq 0,05$  відносно контролю.

Превентивне одноразове введення щурам з моделлю ГПМК досліджуваних похідних адамантану в дозі 5 мг/кг в/о проявилось виразною захисною дією на ішемізований головний мозок тварин лише на тлі сполук з

лабораторними шифрами ЮК – 1(адемом), ЮК – 4, ЮК – 53, ЮК – 54, ЮК – 55, ЮК – 67, ЮК – 70 та ЮК – 76. На це вказувало вірогідне зниження під впливом вказаних речовин, як і під дією обох референс-препаратів, показника летальності щурів з ГПМК у критичний період експерименту. При цьому зазначені похідні адамантану за ступенем захисної дії на ішемізований мозок в дозі 5 мг/кг співставлялись з мексидолом (100 мг/кг), наближаючись до цитиколіну (250 мг/кг) (табл. 2.1. ). Решта досліджуваних похідних виявились менш ефективними або зовсім не проявляли захисну дію на щурів у заданих умовах експерименту порівняно із перерахованими вище сполуками.

Подальше дослідження показало, що найбільш ефективними є сполуки ЮК-1 (адемом) та ЮК-76, які в оптимальних дозах відповідно 2 мг/кг та 10 мг/кг повністю запобігали летальності щурів з БКО, тобто як і цитиколін (250 мг/кг), сприяли 100% виживанню тварин у критичний період ГПМК.

Таким чином, за результатами скринінгового дослідження можна вважати, що похідним адамантану притаманна церебропротекторна активність. Найбільш виразна, співставима з цитиколіном (250 мг/кг), захисна дія на ішемізований мозок щурів при превентивному введенні в організм проявилась на тлі сполуки ЮК – 1 (адемому) в дозі 2 мг/кг, на що вказувало повне запобігання летальності тварин з БКО в критичний період експерименту, коли в контролі загибель щурів становила 60%. При цьому адемом (2 мг/кг) в певній мірі переважав мексидол (100 мг/кг). Аналогічний ефект зареєстровано під дією адемому, кватернізованого йодистим метилом – сполука ЮК – 76. Однак слід зазначити, що 100 % виживання щурів з БКО на тлі ЮК – 76 мало місце при його застосуванні у дозі 10 мг/кг, тобто у 5 разів більшій дозі, ніж адемому, що свідчить про більшу активність самого адемому (ЮК-1) порівняно з ЮК – 76.

Характеризуючи залежність "структура-дія", можна зазначити, що величина захисного ефекту досліджуваних адамантанів на ішемізований мозок залежить від структури аміногрупи. Так, наявність тут морфоліну

(ЮК-1) забезпечує найбільший ступінь церебропротекції. Четвертинна сіль ЮК – 67, яка на відміну від ЮК-1 (адемолу) замість морфоліну містить піролідін, проявляла достатньо виразну церебропротекторний ефект, хоча і менший, ніж у адемолу. Введення в алоксигрупу 1-адамантильного радикалу, а в якості амінного фрагменту діетиламін, який кватернізовано йодистим метилом (сполука ЮК-70), також проявилось значним церебропротекторним ефектом, хоча і меншим за величиною, ніж у ЮК-1 (адемолу).

Сполуки, які мають в алкоксі групі 1-адамантилетильний (ЮК-4) та 1 – адамантилметильний фрагменти (ЮК 53, 54, 55), а в якості аміногрупи відповідно діетиламін, N-2-оксіетилпіперазин, морфолін, виявили в порівнянні з адемолом (ЮК-1) значно нижчу церебропротекторну дію.

Отже, проведене дослідження показало, що новим похідним адамантану притаманна достатньо виразна захисна дія на ішемізований головний мозок, яка в значній мірі обумовлена структурою третинної аміногрупи сполуки. Зазначена активність в умовах БКО у найбільшій мірі проявилась на тлі 1-адамантилетокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (ЮК-1, адемолу).

За ступенем церебропротекторного ефекту адемом (ЮК-1) в оптимальній дозі 2 мг/кг при превентивному в/о введенні щурам з моделлю ГПМК прирівнюється до цитиколіну (250 мг/кг, в/о): протягом 12 год після їх ін'єкцій має місце 100% запобігання летальності тварин. При цьому за ефективністю адемом перевершує мексидол (100 мг/кг, в/о) в заданих умовах експерименту.

Четвертинна сіль адемолу (ЮК 76), сполуки ЮК 67, ЮК 70 за величиною захисної дії на ішемізований головний мозок виявили меншу активність, ніж сам адемом. При цьому сполука ЮК-76 в оптимальній дозі 10 мг/кг в/о за ступенем церебропротекторного ефекту співставлялась з адемолом, взятим в дозі 2 мг/кг, та цитиколіном (250 мг/кг).

На підставі результатів проведеного дослідження можна вважати, що адемом (ЮК-1) в ряду нових похідних адамантану є найбільш

перспективною сполукою для поглибленого вивчення фармакологічних властивостей на предмет придатності для створення на його основі нового церебропротекторного засобу.

## ***2.2. Порівняльна оцінка впливу найбільш ефективних сполук на активність NMDA-рецепторів***

За даними літератури [В.Е. Гмиро, С.Е. Сердюк, 2002; S.M Allan, et al., 2001] в умовах гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК) в нейронах мають місце розлади високоселективної системи транспорту глутамату та аспартату з синаптичної щілини до астроглії за рахунок дисфункції каналів активного іонного транспорту та астроцитозу, порушується система шляхів перетворення медіаторів [Комиссаров И.В. и др., 2003; Мошарова И.В. 2002] . Це призводить до того, що абсолютна концентрація та час перебування глутамату та аспартату в синаптичній щілині перевершує допустимі параметри і процес деполяризації мембрани нейронів набуває незворотного характеру. Результатом цього є надмірне збудження глутаматних рецепторів [Cho Y. et al., 2010].

Надмірне збудження глутаматних NMDA рецепторів викликає «шокове» відкриття кальцієвих каналів і могутній притік іонів  $Ca^{2+}$  у пошкоджені нейрони з раптовим збільшенням його концентрації до порогової величини, що у свою чергу викликає загибель нейронів [Е.И. Гусев, В.И. Скворцова, 2001; D.W. Choi, 1993].

За останнє десятиріччя з'явилися нові дані, які свідчать про провідну роль глутаматергічних синапсів мозку в процесах нейродегенерації, навчання і пам'яті [M.Arlander et al. 2007]. Так, фенциклідин і дизоцилпін – високоафінні неконкурентні блокатори NMDA підтипу глутаматних рецепторів (NMDA-Rs), які протидіють ішемічним пошкодженням мозку, однак мають високий наркотичний потенціал і викликають нейродегенеративні зміни в ЦНС. Ведеться інтенсивний пошук високоефективних та безпечних блокаторів NMDA-рецепторів [В.Е.Гмиро,

С.Е. Сердюк, 2002; Y. Cho et al, 2010]. При цьому слід враховувати, що повна інактивація вказаних рецепторів *in vivo* призводить до поширеного апоптозу в ЦНС, що посилює нейродегенеративні процеси та блокує здатність клітин до виживання в умовах ішемії. Зниження активності NMDA-рецепторів попереджає розвиток некрозу нервових клітин та пов'язану з апоптозом ексайтотоксичність.

З відкриттям феномену глутаматної «ексайтотоксичності» та розвитком уявлень про глутамат-кальцієвий каскад стала очевидною роль агоніст-залежних (рецептор-регулюючих) кальцієвих каналів, вбудованих у глутаматні рецептори, у формуванні пошкоджень ішемізованих тканин мозку. Це призвело до зміни стратегії нейропротекції, створенню препаратів-антагоністів глутаматних NMDA та AMPA рецепторів (Е.И. Гусев, В.И. Скворцова, 2001).

Відомо, що антагоністи NMDA-рецепторів зменшують потік іонів  $Ca^{2+}$  в клітини через агоніст-залежні кальцієві канали. Вони були першими церебропротекторними препаратами, які в умовах експериментального ГПМК значно (на 40-70%) обмежували ділянку інфаркту мозку, перш за все, за рахунок збереження живої зони «ішемічної напівтіні» (пенумбри) (D.W. Choi, 1990).

Сьогодні відомі конкурентні та неконкурентні антагоністи NMDA-рецепторів. До перших відносяться: фенциклідин, кетамін, декстрорфан, церестат, ремацемід, магnezія; до конкурентних – селфотел та ін. Однак застосування більшості із названих антагоністів NMDA-рецепторів у клініці, за винятком магnezії (випробування продовжується), виявилось неможливим через широкий спектр важких побічних ефектів (загальнотоксичних, психічних, рухових та ін.)

При цьому слід враховувати те, що широке розповсюдження глутаматних рецепторів в ЦНС та їх значення у виконанні численних фізіологічних функцій мозку, в т. ч. інтелектуально-мнестичних, психічних та



локомоторних, важко уявити безпечність організму при їх «виключенні», тобто блокаді (Е.И. Гусев, В.И. Скворцова, 2001).

Враховуючи, що фізіологічна активність NMDA-рецепторів необхідна для нормального функціонування нервової тканини, клінічний успіх захисту ішемізованого глобального мозку може бути досягнутий лише за умов використання антагоністів NMDA-рецепторів, які селективно знижують їх надлишкову активацію. Подібні властивості певною мірою притаманні декстрометорфану та мемантину (3,5-диметил-1-адамантанамін гідрохлорид), оскільки в дозах, що протидіють ексайтотоксичним пошкодженням мозку, ці речовини, які мають властивості «швидких» блокаторів іонних каналів NMDA-Rs, наркогенної активності не виявляють. Однак при системному введенні в ефективних дозах (5-20 мг/кг) мемантин та інші блокатори NMDA-Rs можуть викликати гіперкінез, гіперлокомоцію, атаксію та інші ускладнення, які є наслідком невеликої різниці між терапевтичними і токсичними дозами [M. Arlander et al., 2007; P.Jenner, 2009]. Серед адамантиловмісних бісамонієвих сполук знайдені речовини з виразною протиішемічною та антигіпоксичною дією, що мають властивості «дуже швидких» неконкурентних блокаторів NMDA і AMPA підтипу глутаматних рецепторів (NMDA/AMPA-Rs) [В.Е. Гмиро, С.Е. Сердюк, 2002; В.Е.Гмиро и др., 2002; А.В.Журавський, 2005].

Наведені дані свідчать про перспективність пошуку серед нових похідних адамантану сполук із церебропротекторною дією, які б володіли властивостями швидких блокаторів/деблокаторів NMDA-рецепторів. У цьому аспекті нашу увагу на першому етапі дослідження привернули адамантанвмісні аміноспирти (сполуки ЮК-1 та ЮК-4), які володіють виразною церебропротекторною дією в умовах ГПМК, що й стало підставою для вивчення їх впливу на активність NMDA-рецепторів.

Матеріали та методи

В експериментах використовувались білі щурі лінії Вістар WAG/GSto віком 14-15 днів. Для дослідження фармакологічних характеристик аспарат-

активованих струмів та модуляції їх досліджуваними сполуками використовувались такі методичні підходи:

- а) приготування зрізів гіпокампу щурів;
- б) виділення окремих клітин із зрізів гіпокампу з використанням методу вібродисоціації нервових клітин;
- в) метод «петч-клемп» у конфігурації «ціла клітина» для реєстрації аспартат-активованого струму [ В.М.Шкриль, О.О. Лук`янець, 1998 ];
- г) реєстрація збуджувальних постсинаптичних потенціалів (ЗПСП) із ділянки *stratum radiatum* САІ зони гіпокампу із використанням біполярної стимуляції колатералей Шафера.

Для отримання окремих пірамідних нейронів гіпокампу, придатних для дослідження методом фіксації потенціалу, використовувався метод м'якої ферментативної обробки зрізів гіпокампу. Після декапітації тварини гіпокамп переносили у штучний спинномозковий розчин (А) наступного складу (у мМ) :150 NaCl; 5 KCl; 0,9 CaCl<sub>2</sub>; 1,1 MgCl<sub>2</sub>; 26 NaHCO<sub>3</sub>; 10 глюкоза; 1,25 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; рН=7,4; далі у цьому розчині гіпокамп нарізали на зрізи. 200-400 мкм, які витримували протягом 30 хв при кімнатній температурі (24°C) у розчині (В) наступного складу (у мМ) : 150 NaCl, 5 KCl, 2 CaCl<sub>2</sub>, 2 MgCl<sub>2</sub>, 26 NaHCO<sub>3</sub>, 10 глюкоза, 1,25 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, рН=7,4. Розчин постійно насичувався газовою сумішшю (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>), рН=7,4. Для ферментативної обробки використовували протеазу (в розчині А) (Sigma, P-5147, *As-pergillus oryzae*) у концентрації 0,4 мг/мл (при t=32°C, 10 хвилин). Для виділення окремих ізольованих нервових клітин із зрізів гіпокампу застосовувалась модифікована методика вібродисоціації клітин із тканини.

Реєстрація іонних струмів через мембрану нейронів проводилася методом внутрішньоклітинної перфузії із використанням скляних мікропіпеток , які мали опір 2-5 МОм. Для отримання NMDA-активованого струму використовували метод швидкої заміни (30 мсек) нормального фізіологічного розчину на розчин, який містив агоніст. Для збудження NMDA-активованого струму в якості агоніста застосовувала аспартат у насичуваній концентрації

300 мкМ з додаванням 10 мкМ гліцину. Час між отриманими відповідями складав 1-2 хв, що було достатньо для виходу рецепторів із стану десенситизації.

Всі реактиви, які використовувалися в роботі, були виробництва фірми «Sigma Chemical Co.» (St. Louis, США)

#### Результати та їх обговорення

Встановлено, що обидві сполуки чинять неоднозначну дію на активність NMDA-рецепторів. Вивчення впливу сполуки ЮК-4 (50 мкМ) на активовані струми NMDA-рецепторно-іонофорного комплексу ізольованих клітин пірамідних нейронів гіпокампу показало її спроможність блокувати іонний струм через NMDA-рецептор в середньому на  $40,4 \pm 7,7\%$  (межі коливань склали 32-51%). На тлі сполуки ЮК-1 (50 мкМ) виявлено потенціювання активованих струмів у вказаних рецепторах – відсоток потенціювання сполукою ЮК-1 активності NMDA-рецепторів ізольованих клітин гіпокампу сягав у середньому  $139,6 \pm 3,58\%$ , межі коливань склали 126-147% (див. табл. 1.2 та рис. 2.2).

Таблиця 2.2.

Вплив сполук ЮК-1 та ЮК-4 на активовані струми NMDA-рецепторів ізольованих клітин гіпокампу щурів

Сполука	Концентрація, мкМ	Ефект	Клітини					I/I <sub>0</sub> ±Se (%)
			1	2	3	4	5	
ЮК-1	50,0	потенціювання(%)	126	147	143	142	140	139,6±3,58
ЮК-4	50,0	пригнічення(%)	44	32	34	51	41	40,4±7,70

У результаті повторюваних переходів активованого NMDA каналу в блоковану форму і назад середня тривалість пачок імпульсів, а отже й

кількість перенесених каналом зарядів зростає. Це дозволяє розглядати сполуку ЮК-1 швидше як потенціатор, ніж блокатор NMDA-рецепторно-канальних ансамблів.

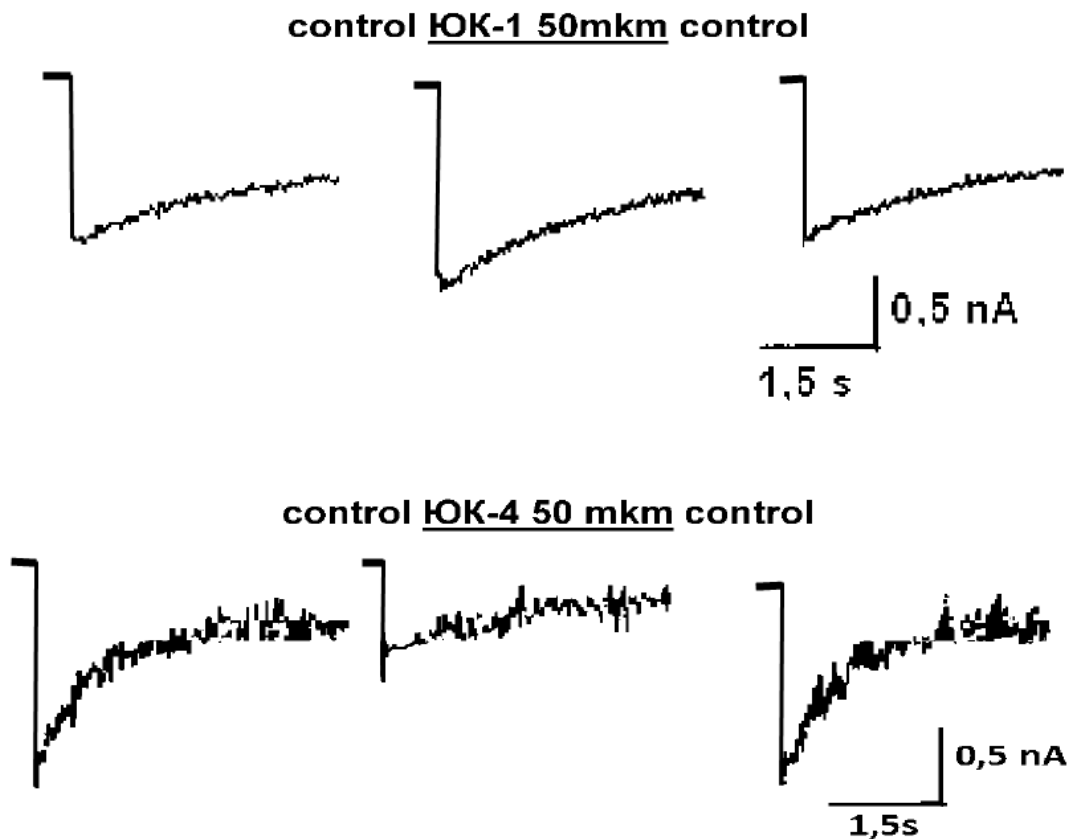


Рис 2.2. NMDA-відповіді в контролі (зліва), під дією ЮК-1, ЮК-4 (вцентрі) та при відмиванні (зправа)

Таким чином, сполука ЮК-4 є типовим низькоафінним неконкурентним антагоністом NMDA-рецептора. На відміну від цього сполуку ЮК-1 можна віднести до активаторів NMDA-рецепторно-іонофорного комплексу пірамідних нейронів гіпокампу із дуже швидкою блокадою/деблокадою NMDA-рецепторів.

Аналізуючи наведені результати, можна зробити припущення, що досліджувані похідні адамантану, особливо сполука ЮК-1, в умовах патологічної активації глутаматних рецепторів можуть виявляти

церебропротекторні ефекти, що узгоджується з результатами попередніх досліджень їх ефективності в умовах ГПМК.

В подальшому представляло інтерес дослідити активність щодо NMDA-рецепторів четвертинних метильних солей структурних аналогів адемолу (ЮК-67, ЮК-70 та ЮК-76), у яких у попередніх дослідженнях виявлена виразна захисна дія на ішемізований мозок. Дане дослідження проведено у аналогічних умовах з ЮК-1 та ЮК-4.

Таблиця 2.3. Активності сполук ЮК відносно NMDA-рецептор-каналних комплексів.

Сполука	Концентрація, мкМ	Ефект	Клітини					I/I <sub>0</sub> ±SD (%)
			1	2	3	4	5	
ЮК-67	50	Пригнічення (%)	42.4	49.9	54.5	50.2	52.3	49.9±4.6
ЮК-70	50	Пригнічення (%)	69.9	77.1	75.4	86.5	78.3	77.4±6.0
ЮК-76	50	Пригнічення (%)	47.9	64.7	61.3	49.9	50.6	54.9±7.6

На рис. 2.3. представлено характерні зміни струму NMDA рецепторів при дії сполук ЮК-67, ЮК-70 та ЮК-76.

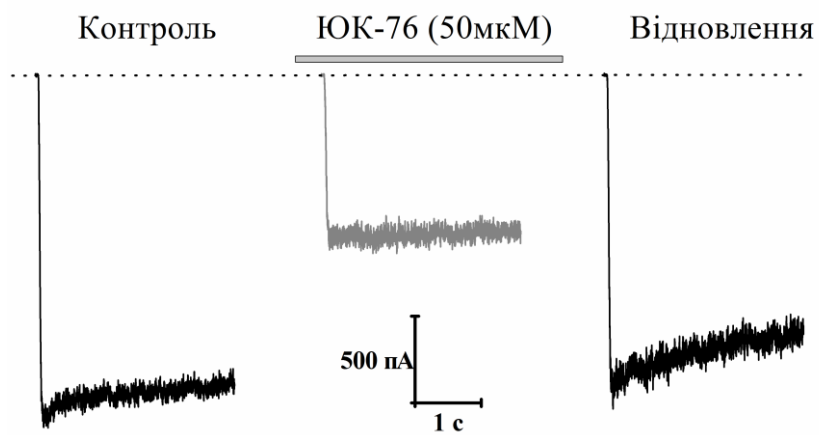
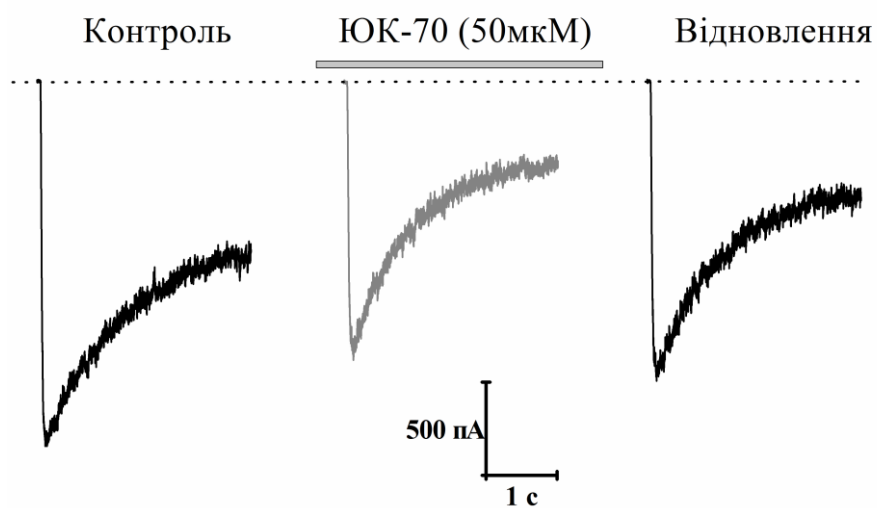
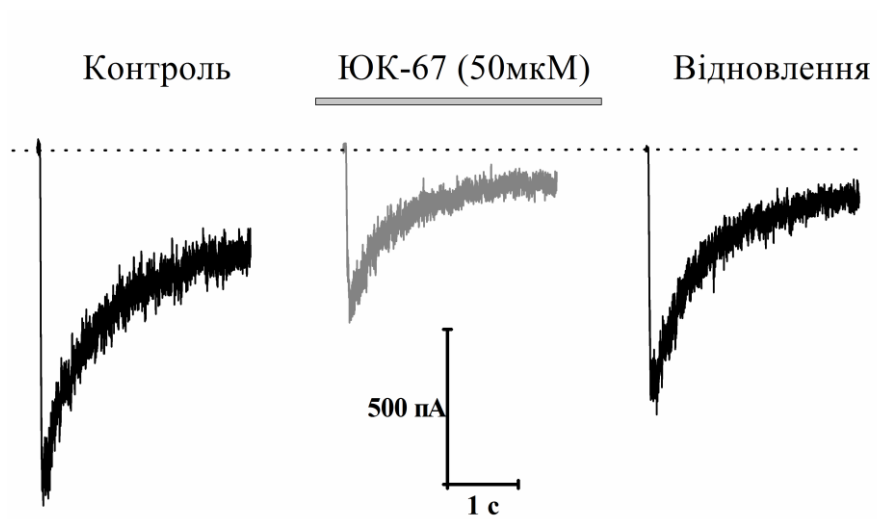


Рис.2.3. Дія сполук ЮК-67, ЮК-70 та ЮК-76 на NMDA -рецептор-канальні комплекси нейронів. NMDA-рецептор опосередкований струм у контрольних умовах (зліва), при дії досліджуваних сполук; показаний струм при стаціонарному рівні дії (центр) та при відновленні (справа). Підтримуваний потенціал нейронів становив -80мВ.

Із даних, наведених у табл.2.2. та рис.2.3. видно, що четвертинні метильні солі структурних аналогів адемолу (сполуки ЮК-67, ЮК-70 та ЮК-76), на відміну від самого адемолу (ЮК-1), проявляють пригнічувальну активність щодо NMDA-рецепторів, за величиною якої вони практично співставляються з ЮК-4 (див. табл.2.2. та рис.2.3.).

За результатами проведених досліджень можна зробити такі висновки:

1. Адемол (сполука ЮК-1) є активатором NMDA-рецепторно-іонофорного комплексу пірамідних нейронів гіпокампі з дуже швидкою блокадою/деблокадою, а ЮК-4, ЮК-67, ЮК-70 та ЮК-76 виявляють властивості неконкурентних антагоністів NMDA-рецепторів.
2. Спроможність адемолу (сполуки ЮК-1) виявляти властивості низькоафінного блокатора/деблокатора NMDA-рецепторів ймовірно є одним із механізмів його захисної дії на ішемізований головний мозок в умовах ГПМК.
3. Адемол (ЮК-1) є перспективною сполукою для поглибленого вивчення його церебропротекторних властивостей в умовах ішемічного ушкодження головного мозку з метою з'ясування питання його перспективності для створення нового лікарського засобу.

## РОЗДІЛ 3

### ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ АДЕМОЛУ, ЦИТИКОЛІНУ, МЕКСИДОЛУ, АКТОВЕГІНУ, ПІРАЦЕТАМУ ТА ВІНПОЦЕТИНУ

О.А. Ходаківський

#### *3.1 Вплив досліджуваних речовин на виживаність щурів та монгольських піщанок на моделі гострої церебральної ішемії*

У групі псевдооперованих щурів, яким в умовах пропофолового наркозу проводили препарування СА та підводили лігатури без подальшої перевязки судин, впродовж усього терміну спостереження (96 год) не було відмічено жодного випадку летальності.

Введення щурам із БКО 0,9% розчину NaCl (контрольна патологія) після перев'язки СА, як і його застосування до моделювання патології (попередній розділ), супроводжувалось прогресуючим зростанням показника летальності тварин (табл. 3.1). Перші випадки загибелі щурів з модельним ішемічним інсультом були зареєстровані вже впродовж першої години після застосування фізіологічного розчину NaCl. В подальшому, впродовж наступних 3-х год спостереження, летальність щурів з ГПМК на тлі застосування 0,9% розчину NaCl стрімко зростала. Так, у зазначений період експерименту загинула третина (30 %) тварин групи контрольної патології.

Подібна негативна динаміка смертності щурів з БКО впродовж перших годин церебральної ішемії вказує на інтенсифікацію процесів патобіохімічного каскаду в нейронах головного мозку і формування вогнища ішемії та зони пенумбри.



Таблиця 3.1

**Вплив адемолу, мексидолу, цитиколіну, актовегіну та пірацетаму на летальність щурів з БКО при в/оч лікувальному введенні в організм, n=30-100**

Термін, год	Летальність, абс. / %						
	Псевдооперовані тварини+0,9% NaCl (2 мл/кг), n=30	Контрольна патологія (БКО+0,9% NaCl) (2 мл/кг), n=100	БКО+адемола (2 мг/кг), n=50	БКО + мексидол (100 мг/кг), n=50	БКО + цитиколін (250 мг/кг), n=60	БКО + актовегін (16 мг/кг), n=76	БКО + пірацетам (400 мг/кг), n=100
1	0 / 0%	10 / 10% <sup>°</sup>	0/0% *#	0/0% *#	0/0% *#	0/0%#	10/10% <sup>°</sup>
3	0 / 0%	20 / 20% <sup>°</sup>	0/0% *#•\$	0/0% *#•\$	6/10% <sup>°</sup> *#	20/26,3% <sup>°</sup>	20/20% <sup>°</sup>
6	0 / 0%	30 / 30% <sup>°</sup>	0/0% *#•\$&	4/8% <sup>°</sup> *#	6/10% <sup>°</sup> *#	24/31,6% <sup>°</sup>	30/30% <sup>°</sup>
12	0 / 0%	60 / 60% <sup>°</sup>	2/4% *#•\$	10/20% <sup>°</sup> ***	12/0% <sup>°</sup> *#	30/39,5% <sup>°</sup> *	40/40% <sup>°</sup>
18	0 / 0%	60 / 60% <sup>°</sup>	2/4% <sup>°</sup> *#•\$	12/30% <sup>°</sup> *#	12/20% <sup>°</sup> *#	30/39,5% <sup>°</sup> *	50/50% <sup>°</sup>
24	0 / 0%	60 / 60% <sup>°</sup>	10/20% <sup>°</sup> *#	12/30% <sup>°</sup> *#	12/20% <sup>°</sup> *#		60/60% <sup>°</sup>
36	0 / 0%	60 / 60% <sup>°</sup>	10/20% <sup>°</sup> *#	12/30% <sup>°</sup> *#	24/40% <sup>°</sup> *#	46/60,5% <sup>°</sup>	60/60% <sup>°</sup>
48	0 / 0%	70 / 70% <sup>°</sup>	12/30% <sup>°</sup> *#	16/32% <sup>°</sup> *#	24/40% <sup>°</sup> *#	46/60,5% <sup>°</sup>	70/70% <sup>°</sup>
60	0 / 0%	70 / 70% <sup>°</sup>	12/30% <sup>°</sup> *#•\$	20/40% <sup>°</sup> *#	30/50% <sup>°</sup> *#	46/60,5% <sup>°</sup>	70/70% <sup>°</sup>
72	0 / 0%	70 / 70% <sup>°</sup>	12/30% <sup>°</sup> *#•\$	20/40% <sup>°</sup> *#	30/50% <sup>°</sup> *#	46/60,5% <sup>°</sup>	70/70% <sup>°</sup>
Приміт 96	0 / 0%	70 / 70% <sup>°</sup>	20/40% <sup>°</sup> *#	20/40% <sup>°</sup> *#	30/50% <sup>°</sup> *#	46/60,5% <sup>°</sup>	70/70% <sup>°</sup>

1. БКО - білатеральна каротидна оклюзія;
2. <sup>°</sup> - p<0,05 відносно псевдооперованих тварин;
3. \* - p<0,05 відносно контрольної патології;
4. # - p<0,05 відносно пірацетаму (400 мг/кг в/о);
5. & - p<0,05 відносно мексидолу (100 мг/кг в/о);
6. • - p<0,05 відносно цитиколіну (250 мг/кг в/о);
7. \$ - p<0,05 відносно актовегіну (16 мг/кг в/о).

Переважає більшість тварин (60%) загинула через 12 годин після моделювання ГПМК, що можна вважати критичним періодом у розвитку даного патологічного стану. На 4-ту добу спостереження у цій групі загинуло 70% щурів з гострою церебральною ішемією. У подальшому, впродовж наступних 17 діб експерименту (станом на 21-шу добу з моменту моделювання БКО) випадків смерті тварин не реєстрували.

Експериментальне лікування щурів із ГПМК адемолом (2 мг/кг в/о), як і препаратами порівняння мексидолом (100 мг/кг в/о), цитиколіном (250 мг/кг в/о) та актовегіном (16 мг/кг в/о), забезпечувало стовідсотковий захист головного мозку щурів упродовж першої години БКО. Причому, на тлі похідного адамантану летальні випадки не були зареєстровані впродовж 6 годин (при введенні мексидолу - впродовж перших 3 годин) від моменту каротидної оклюзії. На 12-ту годину спостереження (критичний період у розвитку експериментального ГПМК) у групі тварин, які отримували адемолом, смертність склала лише 4% проти 60% порівняно зі щурами, яким в умовах модельної церебральної ішемії вводили лише 0,9% розчин NaCl. Застосування мексидолу, цитиколіну та актовегіну збільшувало виживаність тварин відносно контролю в середньому відповідно на 40%, 40% та 20,5% ( $p < 0,05$ ). Курсове 4-денне лікувальне введення щурам з БКО адемолу, як і мексидолу, вірогідно знижувало смертність тварин із гострою церебральною ішемією порівняно з контролем у середньому відповідно на 30%. У той же час, на тлі цитиколіну досліджуваний показник зменшився в середньому лише на 20%, а церебропротекторний ефект актовегіну впродовж 96 год ГПМК мав тенденцію до суттєвого зниження, починаючи з другої доби терапії, і в кінці спостереження летальність щурів у цій групі впритул наблизилась до показника у контролі. У подальшому до кінця експерименту (до 21-ої доби) летальності щурів з ГПМК у цих групах не реєстрували.

Таким чином, характеризуючи отримані дані стосовно впливу досліджуваних речовин на динаміку показника летальності щурів з

модельною БКО, можна зробити висновок, що за спроможністю підвищувати виживаність тварин практично в усі періоди спостереження адемом в умовно-терапевтичній дозі 2 мг/кг в/о переважав актовегін (16 мг/кг в/о) та пірацетам (400 мг/кг в/о), а подекуди і мексидол (100 мг/кг в/о) та цитиколін (250 мг/кг в/о). За величиною церебропротекторного ефекту в критичний період ГПМК (12 год) досліджувані засоби можна розташувати у такій послідовності: адемом (2 мг/кг в/о) > мексидол (100 мг/кг в/о) = цитиколін (250 мг/кг в/о) > актовегін (16 мг/кг в/о) > пірацетам (400 мг/кг в/о).

В другій серії досліджень для контролю ефективності адемому при гострій церебральній ішемії було обрано монгольських піщанок (гербели), оскільки вони мають роз'єднане вілізієве коло кровообігу, що дозволяє об'єктивно дослідити ефективність нових потенційних церебропротекторів при модельному ГПМК (І.Ф.Беленічев та ін., 2011).

Проведене дослідження показало, що, як і в дослідах на щурах з ГПМК, у гербел з одnobічною оклюзією сонної артерії (контрольна патологія), яким вводили 0,9% розчин NaCl, відмічалось прогресуюче збільшення показника летальності: більше половини гербел (60%) загинуло протягом 8 год від початку спостереження. У подальшому цей показник зростав і через 72 год становив 80%. Лікувальне курсове введення гербелам із ГПМК адемому, як і препаратів порівняння, підвищувало стійкість тварин до циркуляторної ішемії мозку. На це вказувало вірогідне зниження показника летальності та відстрочення часу настання смерті піщанок відносно контролю.

Найбільша терапевтична ефективність виявлена у адемому (2 мг/кг, в/о), лікувальне введення якого у зазначеній дозі подібно до цитиколіну створювало стовідсотковий захист головного мозку гербел в умовах ГПМК упродовж перших 8 год спостереження (табл. 3.2). Під дією мексидолу та пірацетаму у зазначений термін експерименту загинуло відповідно 20% та 40% тварин з ГПМК. Отже, за ефективністю у цей термін церебральної

ішемії адемола у дозі 2 мг/кг не поступається мексидолу та цитиколіну, переважаючи пірацетам ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.2

**Вплив внутрішньоочеревинного введення адемола, мексидолу (100 мг/кг), пірацетаму (400 мг/кг) та цитиколіну (250 мг/кг) на летальність гербел з однібічною каротидною оклюзією, ( $M \pm m$ )**

Умови дослідю	Динаміка (%) летальності гербел через (год)										
	1	2	4	8	12	24	36	48	72	84	96
ГПМК+0,9 % р-н NaCl, 2 мл/кг (контрольна патологія), n=70	10	20	30	60	60	70	70	70	80	80	80
ГПМК+ мексидол, n=20	0	0	10	20*	30*	40	50	50	50*	50*	60
ГПМК+ пірацетам, n=10	10	10	30	40	40	60	60	70	70	70	70
ГПМК+ цитиколін, n=10	0	0	0*#	0*#	20*	20*	30*	40	40*	40*	50
ГПМК+ адемола 1 мг/кг, n=10	0	0	10	20*	30*	30*#	50	50	60	60	60
ГПМК+ адемола 2 мг/кг, n=20	0	0	0*#	0*#	10*	20*	30*	40*#	40*	50*	50*
ГПМК+ адемола 5 мг/кг, n=10	0	10	20	20*	30*	40	60	60	60	70	70

Примітки:

1. ГПМК - гостре порушення мозкового кровообігу;
2. \* -  $p < 0,05$  відносно показника контрольної патології;
3. # -  $p < 0,05$  відносно пірацетаму (400 мг/кг в/о).

На 4-ту добу спостереження (96 год) на тлі курсової терапії піщанок з ішемічним інсультом адемолом (2 мг/кг, в/о), як і при терапії цитиколіном, показник летальності становив 50%. У групі контрольної патології та групі гербел, які отримували мексидол, смертність сягнула 80% та 60% відповідно. Упродовж трьох діб (72 год) лікувальне введення адемолу за своєю ефективністю вірогідно переважало терапію пірацетамом. Застосування адемолу у дозах 1 мг/кг та 5 мг/кг, в/о супроводжувалось меншим за величиною захисним ефектом на ішемізований головний мозок, ніж у дозі 2 мг/кг, в/о. Тому дозу адемолу 2 мг/кг, в/о за даних умов можна вважати оптимальною.

Аналіз динаміки показника летальності у групі тварин з ГПМК, яким вводили пірацетам, показав майже повну відсутність позитивного впливу цього препарату в дозі 400 мг/кг на виживаність тварин із гострою церебральною ішемією. Отримані результати стосовно низької ефективності пірацетаму в гострому періоді церебральної ішемії цілком узгоджуються із клінічними даними, що вказують на відсутність ефекту від призначень цього препарату, навіть у значних дозах, протягом перших трьох діб судинно-мозкової катастрофи (Э.А.Китаева и др.,2009).

Таким чином, характеризуючи результати проведеного дослідження ефективності курсового лікувального введення гербелам з ГПМК окремо адемолу, мексидолу, пірацетаму та цитиколіну, можна зробити висновок, що найбільша нейропротекторна дія впродовж чотирьох діб відмічалась на тлі терапії адемолом у дозі 2 мг/кг, в/о, цитиколіном (250 мг/кг, в/о) та мексидолом (100 мг/кг, в/о). За величиною захисного впливу на головний мозок гербел із ГПМК адемолом не поступався зазначеним нейропротекторам та вірогідно переважав пірацетам упродовж перших трьох діб судинно-мозкової катастрофи.

### ***3.2 Оцінка впливу адемоу на кровопостачання головного мозку в нормі та за гострої церебральної ішемії***

Зниження перфузійного тиску, яке відбувається внаслідок оклюзії церебральної судини, а також за рахунок розладів центральної гемодинаміки, є тригерним фактором для запуску авторегуляторних механізмів, дія яких спрямована на збільшення об'єму церебральної фракції крові (В.В.Колесник, 2011). Саме за рахунок цих процесів навколо ядра ішемічного вогнища, де нейрони зазнали дегенеративно-дистрофічних змін у перші хвилини ішемії, відбувається формування ділянки ішемічної напівтіні (пенумбри). Ця ділянка являє собою динамічну зону гіпоперфузії навколо некротизованих нейронів із виснаженим резервом авторегуляції, та захисним пригніченням метаболізму. Однак, при реперфузії затромбованої судини у перші 4 години нейрони пенумбри спроможні повністю відновити свій морфо-функціональний стан. Тому покращання кровопостачання зони пенумбри суттєво зменшує кінцеву площу інфаркту. За своїм складом ішемічна напівтінь неоднорідна. За критерієм стану авторегуляції нейронів та ступенем зниження в них метаболічних процесів у ній можна виділити зони порушеної перфузії та дифузії, зону олігемії та ділянку некрозу, яка безпосередньо прилягає до ядра інсульту, за рахунок якого воно збільшує свій об'єм (R.S.Pandya et al., 2011).

В арсеналі церебропротекторних механізмів захисної дії багатьох препаратів, з поміж інших, виділяють спроможність деяких із них покращувати мікроциркуляцію у зоні пенумбри за рахунок перерозподілу крові, відкриття колатералей та ангиогенезу. Одним із представників препаратів цієї групи є вінпоцетин. Це стало поштовхом для з'ясування впливу адемоу на церебральну гемодинаміку як одного із можливих механізмів його церебропротекторної дії.

Із даних, наведених у табл. 3.4, видно, що в інтактних наркотизованих щурів на тлі в/в введення 0,9% розчину NaCl має місце поступове

погіршення церебральної гемодинаміки: через 30 хв спостереження об'ємна швидкість мозкового кровообігу у внутрішній СА була у середньому на 25% меншою відносно початкового рівня ( $p < 0,05$ ). В/в введення щурам адемолу викликало підвищення об'ємної швидкості мозкового кровотоку (ОШМК) (див. табл. 3.4). Максимальний приріст ОШМК при цьому мав місце на 30 хв спостереження в середньому на 59,2% відносно початкового показника. В подальшому приріст ОШМК на тлі введення адемолу дещо зменшувався, однак, навіть на 60 хв спостереження залишався вищим від початкового рівня в середньому на 4%, вірогідно перевищуючи в середньому на 30% цей показник у групі інтактних тварин. Максимальний приріст показника ОШМК на тлі вінпоцетину (5 мг/кг) мав місце на 60 хв на 67,7% ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.4

**Вплив внутрішньовенного введення 0,9 % розчину NaCl (2 мл/кг), адемолу (2 мг/кг) та вінпоцетину (5 мг/кг) на кровообіг у внутрішній сонній артерії у наркотизованих щурів (пропофол 60 мг/кг в/оч)  $M \pm m$ ,  $n=7$**

Термін спостереження, хв	Динаміка (%) ОШМК відносно початкового рівня, прийнятого за 100%		
	Контроль (0,9% NaCl)	Адемола	Вінпоцетин
5	-20,45±1,66	+15,40±2,41*#	+5,20±1,96*
10	-20,45±1,66	+22,15±3,78*#	+9,49±3,02*
15	-23,09±1,66	+34,65±3,78*#	+16,58±2,72*
20	-24,0±1,81	+39,29±5,44*#	+26,00±3,47*
25	-25,14±1,96	+51,24±4,08*	+43,30±3,17*
30	-25,89±2,14	+59,22±3,4*	+49,50±3,17*
35	-26,40±1,66	+54,37±3,32*	+54,58±4,66*
40	-27,20±2,72	+25,29±1,05*#	+60,76±2,87*
50	-28,43±2,57	+9,56±1,36*#	+64,93±2,26*
60	-35,35±1,36	+4,60±3,72*#	+67,69±2,26*

Примітки:

1. ОШМК - об'ємна швидкість мозкового кровотоку;
2. \* -  $p < 0,05$  відносно показника контрольної групи;
3. # -  $p < 0,05$  відносно вінпоцетину.

Отже, на підставі проведених досліджень можна зробити висновок, що адемолу, як і вінпоцетину, притаманна властивість стимулювати кровопостачання головного мозку у наркотизованих щурів. Таку дію адемолу можна розцінити як наявність у нього судинорозширювального ефекту.

З'ясуванню цереброваскулярної активності адемолу в умовно ефективній дозі 2 мг/кг в/в при ГПМК було присвячено другу серію даного експерименту.

Таблиця 3.5

**Вплив внутрішньовенного введення 0,9 % NaCl (2 мл/кг), адемолу (2 мг/кг) та вінпоцетину (5 мг/кг) на кровобіг у внутрішній сонній артерії щурів із гострою церебральною ішемією ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )**

Термін спостереження, хв	Динаміка (%) ОШМК відносно початкового рівня, прийнятого за 100%		
	Контроль (0,9% NaCl)	ГПМК+ адемола	ГПМК+вінпоцетин
5	-30,63±2,72	-7,47±0,75*	-5,60±0,81*
10	-32,74±1,96	-10,14±0,71*	-5,92±0,98*
15	-34,68±2,26	-13,11±1,28*	-7,58±1,04*
20	-38,10±1,96	-12,75±5,44*	-9,75±1,20*
25	-37,99±1,51	-11,57±1,28*	-11,69±0,62*
30	-39,85±1,20	-9,80±1,66*	-10,55±0,98
35	-44,03±0,60	-10,70±1,66*	-10,57±0,90*
40	-45,02±1,20	-14,89±1,51*	-11,49±0,60*
50	-49,34±2,26	-16,23±1,52*	-11,54±1,02*



60	-48,55±5,44	-18,45±1,17*	-16,76±1,96*
----	-------------	--------------	--------------

Примітки:

1. ОШМК - об'ємна швидкість мозкового кровотоку;
2. \* -  $p < 0,05$  відносно показника контрольної групи.

У тварин із ГПМК, яким вводили лише 0,9% розчин NaCl (контрольна група), мало місце прогресуюче зниження ОШМК: на 60 хв спостереження кровотік зменшився удвічі порівняно з фоновим рівнем. Адемол, як і референс-препарат вінпоцетин, протидіяв стрімкому зниженню ОШМК протягом усього терміну спостереження. Наприкінці досліду кровотік у внутрішній СА у щурів цих груп залишався відповідно в середньому на 16% та 18% меншим порівняно із початковим рівнем, що вірогідно перевищувало контрольний показник в середньому на 30%.

Таким чином, результати проведеного дослідження показали, що адемолу у дозі 2 мг/кг в/в, як і вінпоцетину (5 мг/кг, в/в) притаманний стимулювальний вплив на кровопостачання головного мозку щурів в умовах ГПМК, що ймовірно лежить в основі його механізму церебропротекторної дії.

На нашу думку, згідно з точкою зору W. Neuhaus et. al. (2012), спроможність адемолу селективно знижувати надлишкову активацію NMDA-рецепторів поряд із стимулювальним впливом на церебральну гемодинаміку в умовах модельного ГПМК сприяє зменшенню вогнища ішемії та зони пенумбри.

На користь такого припущення, свідчать дані результатів моніторингу SaO<sub>2</sub>, АТ та ЦВТ. У групі контрольної патології, внаслідок церебральної ішемії спостерігались порушення вітальних функцій (табл. 3.6). Доказом цього було значне зниження рівня АТ, ЦВТ та насичення крові киснем.

Із даних, наведених в табл. 3.6, видно, що у групі піщанок із ГПМК, яким вводили 0,9% розчин NaCl, через 24 год після одnobічної оклюзії СА, зазначені показники були нижчими відносно фонових у середньому на 36,6% 39,8% та 12,1% відповідно ( $p < 0,05$ ). Негативна динаміка досліджуваних показників дозволяє припустити розвиток у гербел із модельним ГПМК цереброкардіального синдрому, гострої серцево-судинної та дихальної недостатності, погіршення мікроциркуляції і централізації кровообігу. У свою чергу, погіршення гемодинаміки призводило до ще більшого зменшення кровопостачання головного мозку, і, як наслідок, до його вторинного ішемічно-гіпоксичного ураження.

На 4 добу ГПМК на тлі введення 0,9% розчину NaCl відмічалось незначне поліпшення стану центральної гемодинаміки.

Лікувальне курсове введення гербелам із ГПМК адемолу (2 мг/кг, в/о), як і мексидолу (5 мг/кг, в/о), протидіяло прогресуючому зниженню досліджуваних показників (табл. 3.6).

*Таблиця 3.6*

**Динаміка показників центральної гемодинаміки у гербел з гострою церебральною ішемією на тлі курсового внутрішньоочеревинного введення адемолу (2 мг/кг, в/о) та мексидолу (100 мг/кг, в/о)**

**( $M \pm m$ ,  $n=7$ )**

Умови досліджу	Динаміка показників (у %) відносно фонових значень, прийнятих за 100 %		
	ЦВТ	АТ	SaO <sub>2</sub>
	1 доба		
ГПМК+0,9 % NaCl (контрольна патологія)	-39,59 ± 5,29	-39,79 ± 6,51	-12,18 ± 0,75
ГПМК+ адемола	-11,00 ± 1,66*#	-10,04 ± 1,20*#	-3,91 ± 0,85*
ГПМК+ мексидол	-20,11 ± 1,51*	-21,68 ± 0,45*	-5,05 ± 0,15*

4 доба			
ГПМК+0,9 % NaCl (контрольна патологія)	-26,09 ±3,32	-27,38 ±4,41	-8,99 ±0,30
ГПМК+адемола	-8,73 ± 1,36*#	-4,68 ±1,36*#	-2,31 ±0,64*
ГПМК+ мексидол	-14,10± 1,49*	-11,64 ± 1,87*	-2,64 ±0,30*

Примітки:

1. ЦВТ - центральний венозний тиск;
2. АТ - артеріальний тиск;
3. SaO<sub>2</sub>- сатурація крові киснем;
4. \* - p<0,05 відносно відповідного показника групи контрольної патології у відповідний термін ГПМК;
5. # - p<0,05 відносно відповідного показника у групі тварин, лікованих мексидолом у відповідний термін ГПМК.

Так, наприкінці досліду, на тлі введення кожної речовини показники ЦВТ, АТ та SaO<sub>2</sub> були вірогідно вищими за аналогічні у групі контрольної патології в середньому на 17,4%; 22,7%; 6,7% та 11,9%; 15,7% та 6,4% відповідно. За спроможністю нормалізувати ЦВТ та АТ на 1-шу та 4-ту добу експерименту адемола вірогідно переверщував за ефективністю мексидол у середньому в 1,8 та 1,6 рази та у 2,1 і 2,4 рази відповідно.

Отже, адемола за лікувального введення тваринам з ГПМК поряд із покращанням церебральної гемодинаміки сприяє нормалізації основних вітальних функції (перш за все, діяльність серцево-судинної системи), що може свідчити про покращення перебігу гострої церебральної ішемії та зменшення прояву цереброкардіальної дисфункції. Останнє може бути свідченням наявності у адемола в умовах модельного ГПМК не тільки церебро-, але і кардіопротекторних властивостей.

### 3.3. Дослідження неврологічного дефіциту в щурів із моделлю гострого порушення мозкового кровообігу під впливом адемолу та оцінка його мнемоторної активності у відновному періоді церебральної ішемії

Як свідчать літературні дані (И.Ф.Беленичев и др., 2008; В.В.Шведський та ін., 2011), інтегральними показниками, що дозволяють оцінити якість захисного впливу потенційного нейропротектора на ішемізований головний мозок, поряд із зменшенням летальності є швидка ліквідація неврологічного дефіциту та покращання мнестичних функцій. Саме тому було доцільним дати оцінку церебропротекторних властивостей адемолу за динамікою неврологічного статусу щурів у динаміці церебральної ішемії.

Проведене дослідження показало, що БКО у щурів викликала тяжкі неврологічні зміни: паралічі, парези, птоз із максимальним проявом на 4-ту добу (табл.3.7). Так, у цей термін спостереження у групі тварин, яким вводили лише 0,9% розчин NaCl, середній бал за шкалою С.Р. McGrow складав 12,33, що відповідає тяжкому ступеню неврологічної симптоматики, а летальність становила 66,6 %. Спостереження на 21-шу добу показали, що в цій групі не спостерігалось повного відновлення втрачених функцій ЦНС. На користь такого твердження вказував наявний неврологічний дефіцит (7,8 бала).

Таблиця 3.7

**Вплив курсового внутрішньоочеревинного введення адемолу (2 мг/кг) та цитиколіну (250 мг/кг) на динаміку неврологічного дефіциту і летальність щурів із гострим порушенням мозкового кровообігу (M±m, n=10)**

Група тварин	Неврологічний дефіцит за шкалою С.Р. McGrow	
	на 4 добу	на 21 добу
Псевдоперовані тварини+ 0,9% розчин NaCl	0,00±0,00	0,00±0,00

ГПМК + 0,9% розчин NaCl (контрольна патологія)	12,33±0,56*	7,80±0,66*
ГПМК + адемомол	7,50±0,43* <sup>#^</sup>	4,60±0,40* <sup>#</sup>
ГПМК + цитиколін	9,20±0,42* <sup>#</sup>	4,78±0,40* <sup>#</sup>

Примітки:

1. \* -  $p < 0,05$  відносно показника псевдооперованих щурів;
2. # -  $p < 0,05$  відносно показника контрольної патології;
3. ^ -  $p < 0,05$  відносно показника групи цитиколіну.

Аналізуючи динаміку регресу неврологічного дефіциту, можна зазначити, що й за цією ознакою адемомол у ранній період ГПМК переважав цитиколін: на 4 добу спостереження середній бал за шкалою С.Р. McGrow становив відповідно 7,5 та 9,2 ( $p < 0,05$ ). У відновному періоді ГПМК обидва досліджувані препарати продемонстрували однакову спроможність знижувати неврологічну симптоматику - середній бал за шкалою С.Р. McGrow становив відповідно 4,60 та 4,78 (табл. 3.7). Поряд із цим, дослідження процесів пам'яті та навчання (за тестом УРПУ) у цей період ГПМК свідчать про пригнічення мнестичних функцій за критерієм зменшення латентного періоду входу до темної камери, де тварини напередодні зазнавали електробольового подразнення, порівняно з показником псевдооперованих щурів (табл.3.8).

*Таблиця 3.8*

**Вплив курсового внутрішньоочеревинного введення адемомолу (2 мг/кг) та цитиколіну (250 мг/кг) на навчання та пам'ять щурів з гострим порушенням мозкового кровотоку на 21 добу експерименту за тестом умовної реакції пасивного уникнення ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )**

Групи тварин	Латентний період входу в темну камеру, с	
	до навчання	через 24 год після навчання
Псевдооперовані тварини+ 0,9% розчин NaCl	5,30±0,30	222,20±2,68

ГПМК + 0,9% розчин NaCl (контрольна патологія)	18,70+0,58* (+352,83 %)	45,80+2,84* (-79,39 %)
ГПМК + адемол	11,60+0,83*# (+118,86%) [-37,97 %]	115,10+4,25*#^ (-48,20 %) [+151,31 %]
ГПМК + цитиколін	10,50+0,70*# (+98,11 %)	81,00+1,88*# (-63,55 %)

Примітки:

1. \* -  $p < 0,05$  відносно показника псевдооперованих щурів;
2. # -  $p < 0,05$  відносно показника контрольної патології;
3. ^ -  $p < 0,05$  відносно показника групи цитиколіну;
4. У круглих дужках - зміни (%) відносно показника псевдооперованих щурів, у квадратних дужках - відносно показника тварин з ГПМК, яким вводили 0,9 % розчин NaCl.

Щодо відновлення мнестичних функцій при ГПМК, цитиколін дещо покращував пам'ять, але при цьому поступався адемолу, який ліпше наближав показники тесту УРПУ до результатів псевдооперованих тварин (табл. 3.8). Таким чином, у нелікованих щурів із гострою церебральною ішемією спостерігались тяжкий неврологічний дефіцит та погіршення процесів навчання і пам'яті у відновному періоді. Адемол ліпше за цитиколін сприяв зменшенню виразності неврологічних порушень, що супроводжувалося покращенням мнестичних функцій у тварин із ГПМК на 21-шу добу спостереження.

#### ***3.4. Вплив адемолу на морфологічні зміни у головному мозку щурів із гострою церебральною ішемією***

Наведені вище дані щодо наявності у адемолу виразної захисної дії на ішемізований мозок слугували підставою для проведення наступного

дослідження, метою якого було – охарактеризувати вплив адемоу на динаміку деструктивних змін соматосенсорної зони кори головного мозку щурів з ГПМК за даними світлової мікроскопії та мікроморфометрії.

При морфологічному дослідженні сенсомоторної ділянки кори півкуль головного мозку інтактних щурів на мікропрепаратах чітко візуалізувались ядра клітин нейроглії та нейронів, нейроцити, кровоносні капіляри (рис 3.1).



Рис. 3.1. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль інтактних щурів. Забарвлення гематоксилін-еозин. Об'єктив x10. Окуляр x10.

1 - нейроцити; 2-астроцити; 3-нейропіль.

Між судинами кровоносного мікроциркуляторного русла (МЦР), тілами і відростками нейронів, нейропіль виявляли у вигляді блідо-блакитної дрібнозернистої речовини, в якій розташовані ядра (рис 3.2).

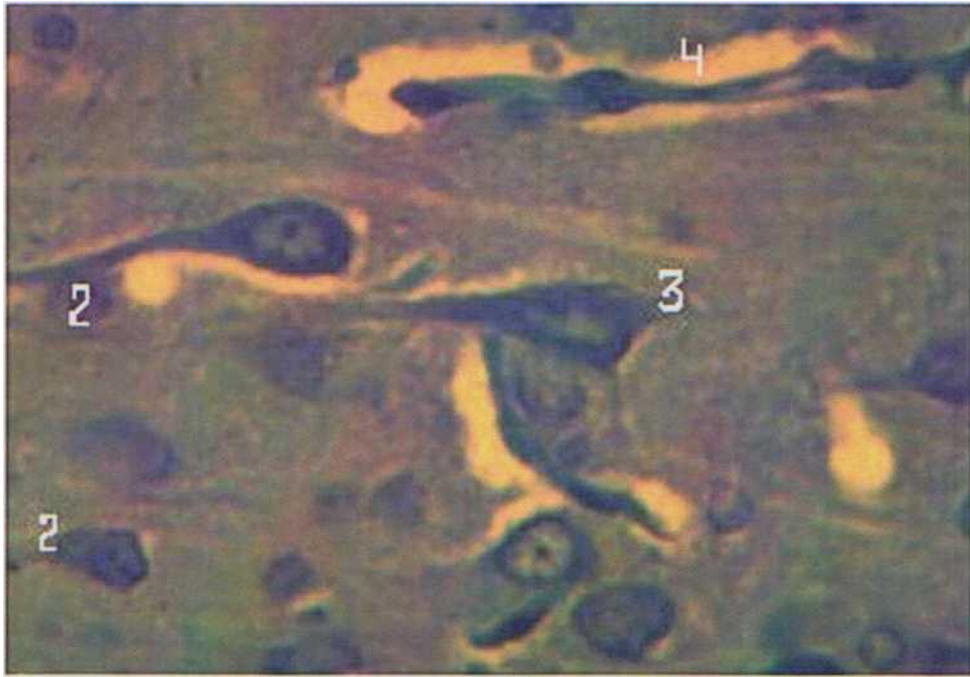


Рис. 3.2. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль інтактних щурів. Забарвлення толуїдиновим синім. Об'єктив x40. Окуляр x10. 1 - нейроні; 2-астроцити; 3-нейропіль; 4-кровоносні капіляри.

На відміну від нейронів, клітини нейроглії мали меншу величину та більш темні ядра овальної форми. В корі великих півкуль нейроглія представлена, в основному, протоплазматичними астроцитами та клітинами мікроглії (рис. 3.3). В м'якій мозковій оболонці візуалізувались кровоносні судини, які, розгалужуючись, у вигляді кортикальних артеріол проникають в кору (рис. 3.4).



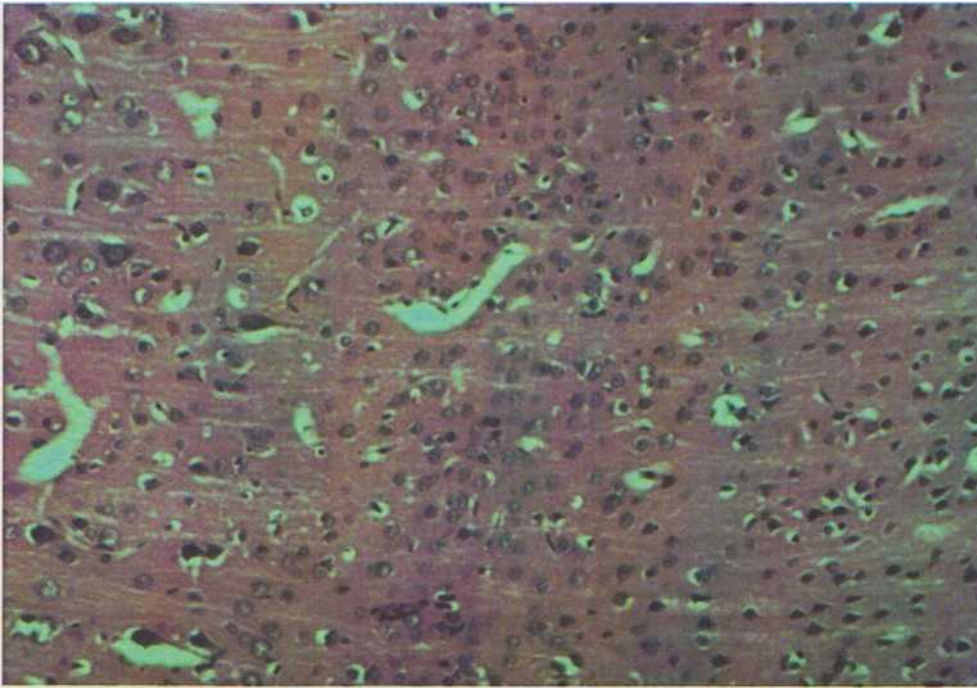


Рис. 3.3. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль інтактного щура. Зabarвлення гематоксилін-еозин. Об'єктив x10. Окуляр x10.

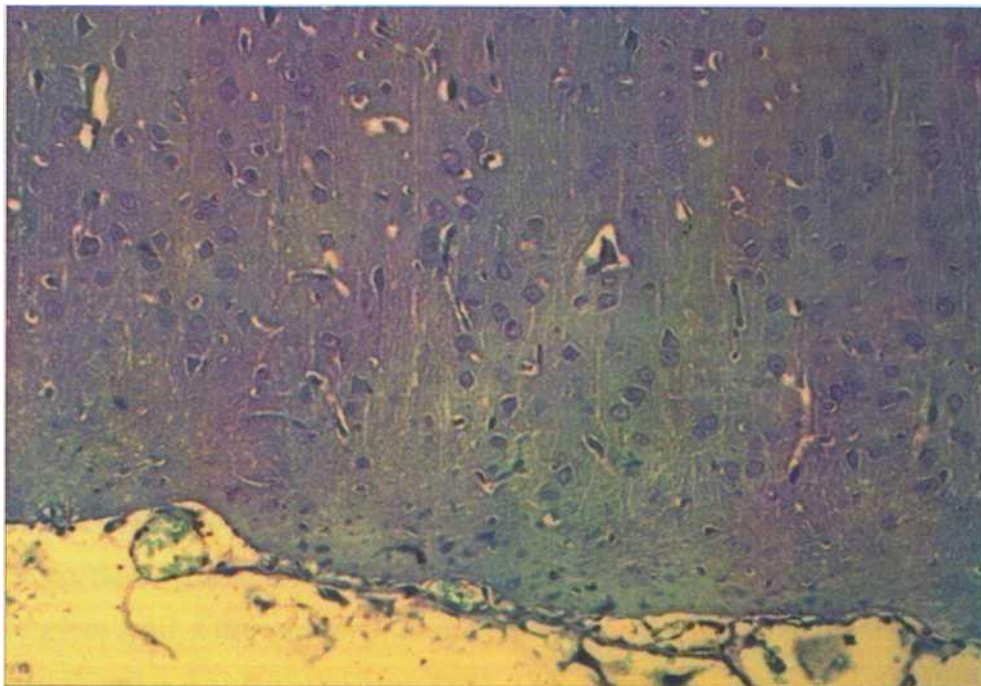


Рис. 3.4. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль інтактного щура. Зabarвлення толуїдиновим синім. Об'єктив x10. Окуляр x10.

В проксимальній частині судини МЦР покриті футляром зі сполучної тканини, яка містить фібробласти, макрофаги і сітку з колагенових волокон. Між сполучною тканиною, що вкриває артеріоли і венули, та м'якою мозковою оболонкою розташовано периваскулярний простір. Навколо кровоносних капілярів такі простори були відсутніми. Кортикальні артеріоли у інтактних щурів помірно повнокровні. Ендотеліоцити однорідні за формою та розмірами і утворюють суцільний пласт (рис. 3.2).

Після моделювання експериментальної церебральної ішемії, в нейронах, клітинах нейроглії та судинах МЦР соматосенсорної кори головного мозку щурів групи контрольної патології на 4-ту добу експерименту були помітні атрофічні та деструктивні зміни. В судинах на тлі повнокрів'я, стазу та агрегації тромбоцитів, поряд із нерівномірним кровонаповненням відмічалась підвищена проникність їх стінок для плазми і формених елементів крові (рис. 3.5).

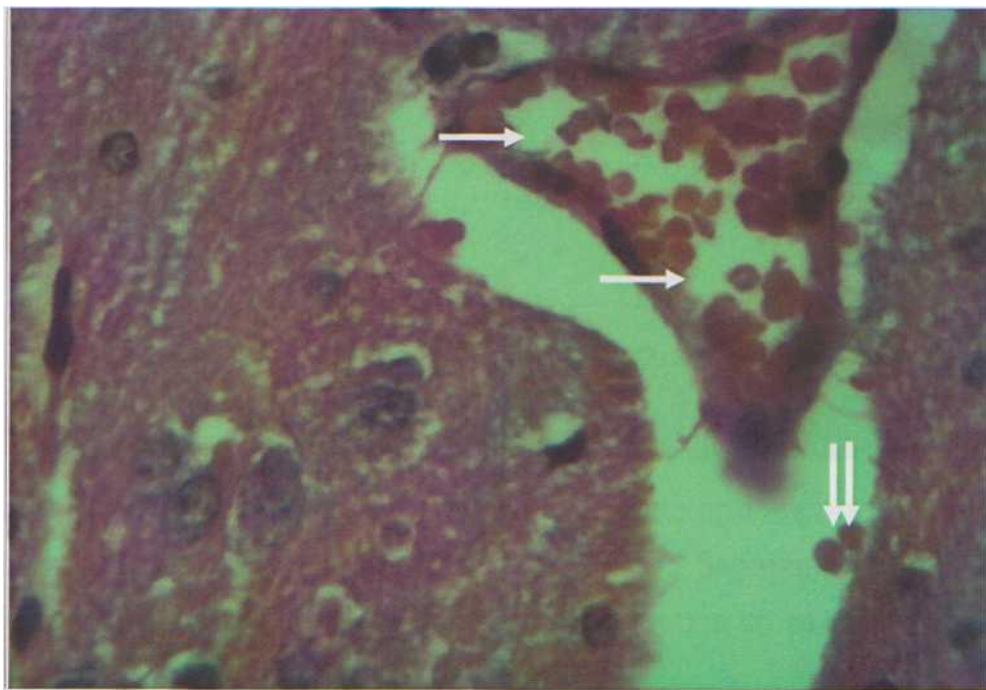


Рис. 3.5 Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура групи контрольної патології на 4-ту добу БКО. Забарвлення гематоксилін-еозин. Об'єктив x40. Окуляр x10. Венозне повнокров'я (↑). Діapedез лейкоцитів та еритроцитів крізь венозну стінку (↑↑).

Візуально стінки артеріол потовщенні, просвіти нерівномірні, осередково звужені, в них помітні тромби, ендотеліоцити не утворюють суцільний шар. Мікроскопічно в середній оболонці артеріол помітні вогнища десквамації ендотеліоцитів та гіпертрофії гладких міоцитів. Просвіти венул розширені та повнокровні. Помітне крайове стояння лейкоцитів та їх посилений діapedез через стінки судин (рис. 3.6). Мікроскопічно, порівняно з інтактними тваринами, відмічалось збільшення кількості капілярів за рахунок утворення нових судин. Ендотеліоцити в їхніх стінках були неоднорідні, деструктивно змінені.

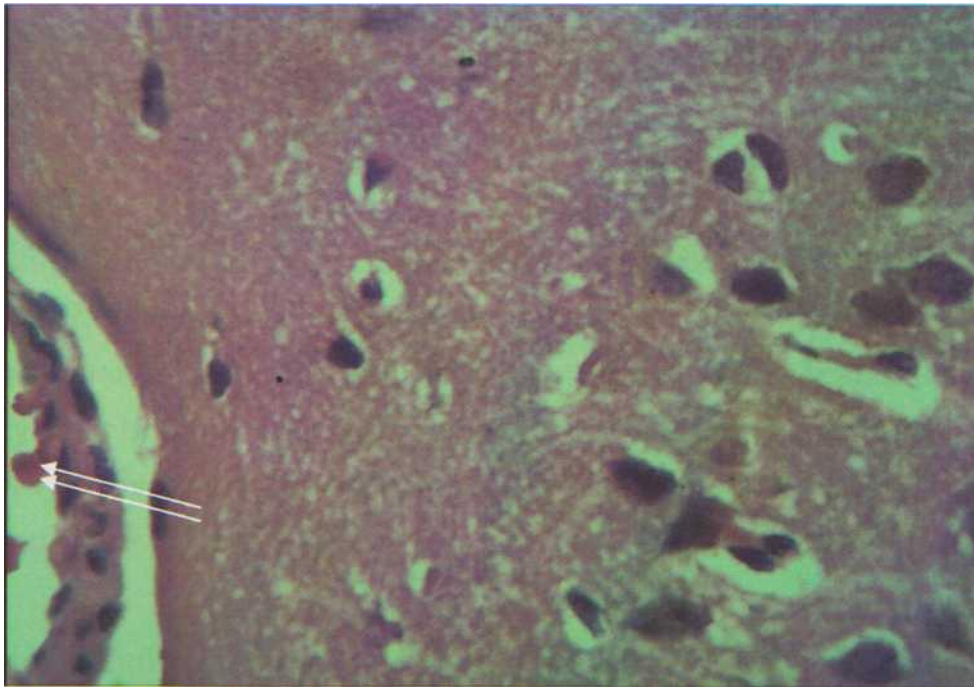


Рис. 3.6. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура групи контрольної патології на 4-ту добу БКО. Забарвлення гематоксилін- еозин. Об'єктив x40. Окуляр x10. Діapedез еритроцитів крізь стінки артеріол(↑↑)

В цитоплазмі більшої частини ендотеліальних клітин були помітні ознаки вакуолярної дистрофії. Ядра ендотеліоцитів гіперхромні, частково вакуолізовані, їх контури фестончасті. Базальна мембрана капілярів потовщена. Навколо судин МЦР виявляли вогнища лейкоцитарної інфільтрації, а також виражений набряк інтерстицію. У співвідношенні гіпо-,

гіпер- та нормохромних нейронів, чисельно переважали гіперхромні клітини, тоді як у інтактних тварин превалювали нормохромні. Цитоплазма нейроцитів гомогенізована, а ядра пікнотично змінені. Поряд з цим помітні нейрони, в яких цитоплазма містила чисельні вакуолі (рис. 3.7).

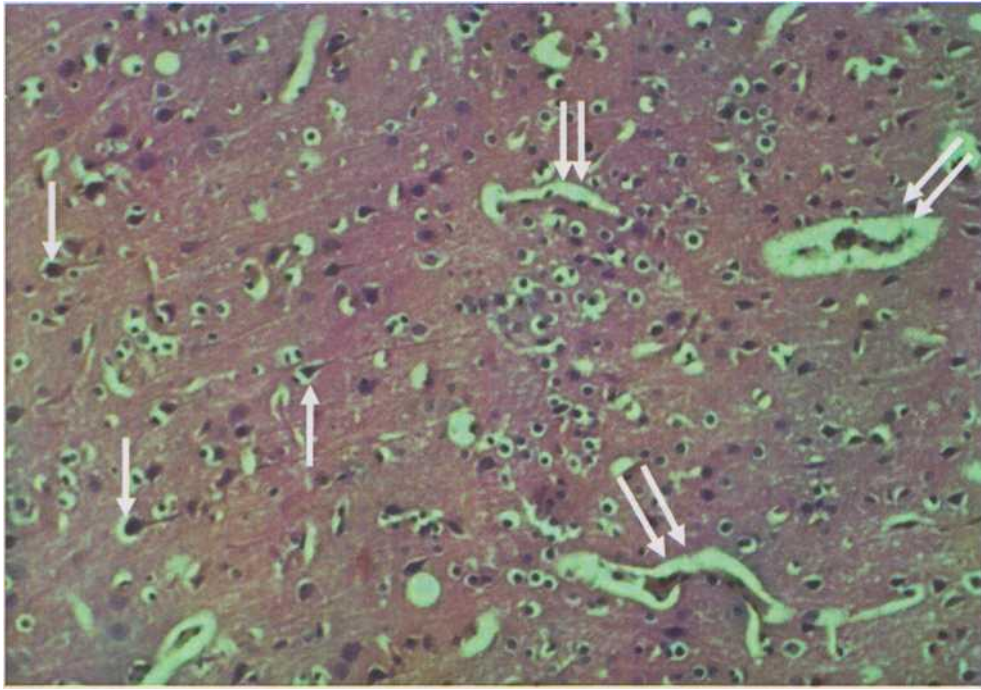


Рис. 3.7. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура групи контрольної патології на 4-ту добу БКО. Забарвлення гематоксилін-еозин. Окуляр x10. Об'єктив x10. Гіперхромні нейрони внутрішньої пірамідної пластинки (↑). Периваскулярна лейкоцитарна інфільтрація та виразний набряк інтерстицію (↑↑)

В зовнішній пірамідній пластинці більша частина нейронів була деструктивно зміненою. Навколо ділянок некрозу виявляли виражену лейкоцитарну інфільтрацію. Ділянки фокального ішемічного інфаркту були відділені від неушкодженої кори перехідною зоною у вигляді кільцеподібного розростання клітин мікроглії навколо зон некрозу. Нейропіль мав грубозернистий вигляд. В клітинах нейроглії цитоплазма була просвітленою та набряклою, ядра гіперхромними, ядерця в них не

візуалізувались. Частина ядер була у стані каріолізису та каріорексису. В цитоплазмі астроцитів були помітні ознаки вакуолярної дистрофії.

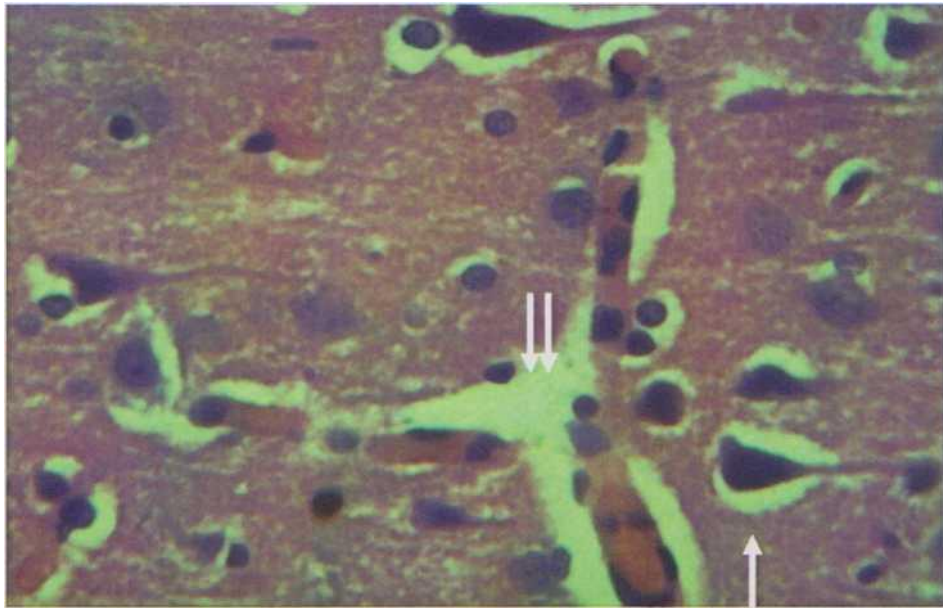


Рис. 3.8. Фрагмент сенсомоторної кори великих півкуль щура контрольної патології на 4-ту добу БКО. Зabarвлення гематоксилін-еозин. Окуляр x40. Об'єктив x10. Гіперхромні нейрони внутрішньої пірамідної пластинки (↑). Периваскулярна лейкоцитарна інфільтрація та виразний набряк інтерстицію (↑↑)

Таким чином, на 4-ту добу експерименту в головному мозку щурів групи контрольної патології виявляли зміни у всіх структурних компонентах кори.

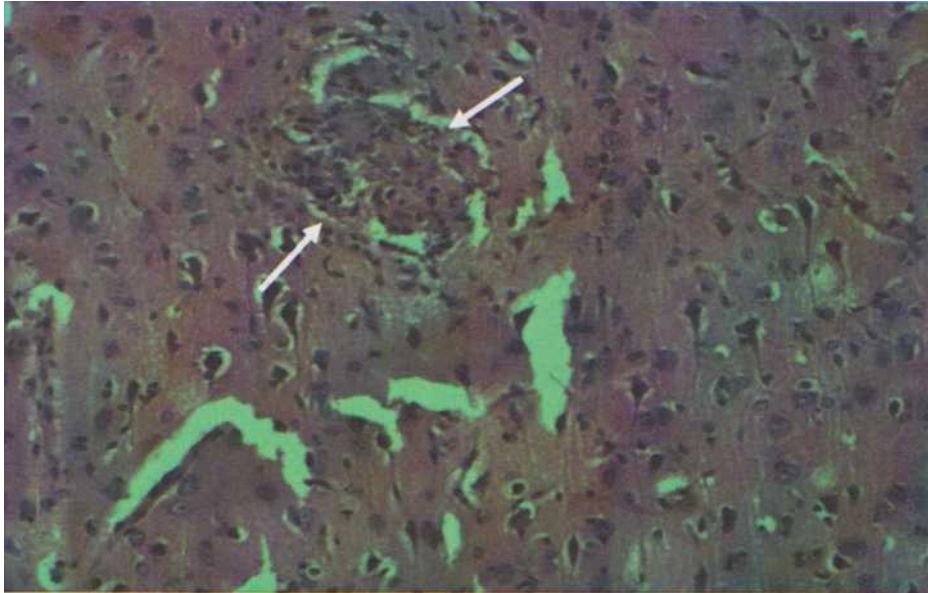


Рис. 3.9. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль головного мозку щура групи контрольної патології на 4-ту добу БКО. Забарвлення гематоксилін-еозин. Окуляр  $\times 10$ . Об'єктив  $\times 10$ . Вогнищевий ішемічний інфаркт ( $\uparrow$ ).

Мікроскопічно нейрони зморщені, навколо них помітні розширені перичелюлярні простори. Клітини нейроглії деструктивно змінені, а структура нейропілю грубозерниста. Порушено співвідношення гіпо-, гіпер- та нормохромних нейронів зовнішньої та внутрішньої пірамідних пластинок у бік перших двох, що вказувало на селективне ураження нервових клітин, які були більш чутливими до дії ішемічного чинника (рис. 3.10).

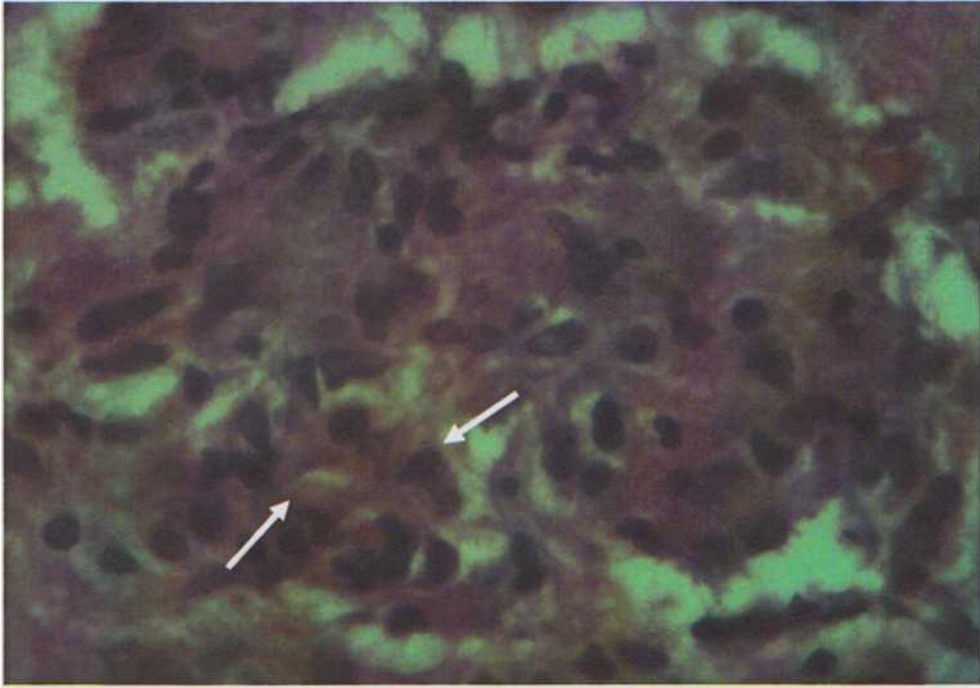


Рис. 3.10. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль головного мозку щура групи контрольної патології на 4-ту добу БКО. Забарвлення гематоксилін-еозин. Окуляр  $\times 40$ . Об'єктив  $\times 10$ . Вогнищевий ішемічний інфаркт ( $\uparrow$ ).

На 21-шу добу ГПМК зміни в судинах кровоносного МЦР головного мозку щурів контрольної групи були більш виразними, ніж у попередній термін спостереження. Стінки артеріол потовщені, ендотеліоцити дистрофічно та деструктивно змінені. Часто візуалізувались пристінкові тромби, які в деяких випадках призводили до оклюзії їх просвіту. В середній оболонці помітні ознаки гіпертрофії та гіперплазії лейоміоцитів. У венулах застійне повнокрів'я, а в периваскулярних просторах були виразні явища лейкоцитарної інфільтрації, набряк інтерстицію та гіперплазії сполучної тканини навколо судин кровоносного МЦР (рис. 3.11 та 3.14).

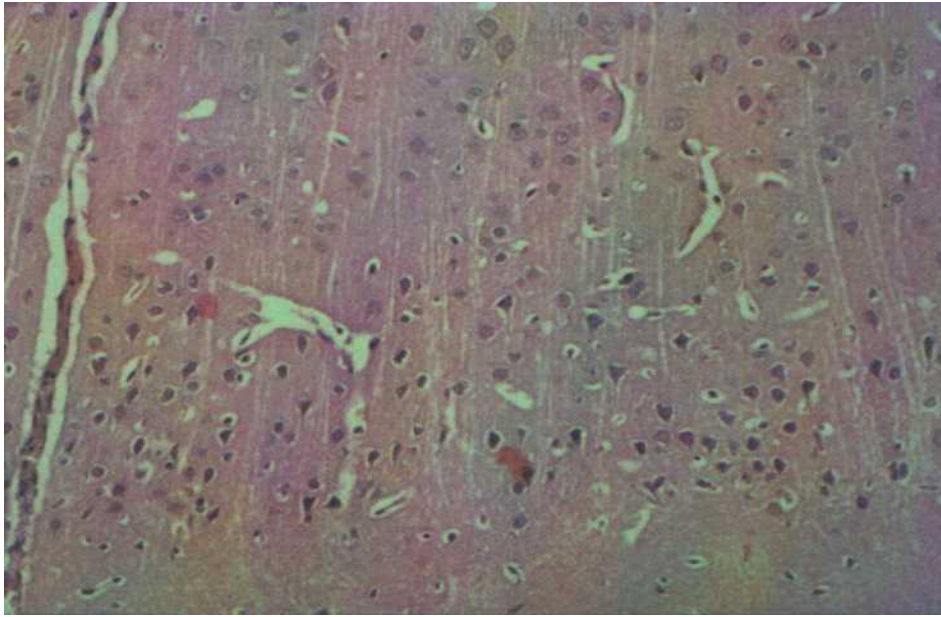


Рис. 3.11. Фрагмент сенсомотрної кори великих півкуль щура контрольної патології на 21-шу добу БКО. Зabarвлення гематоксилін-еозин. Окуляр x10. Об'єктив x10. Гіперхромні нейрони зовнішньої пірамідної пластинки.



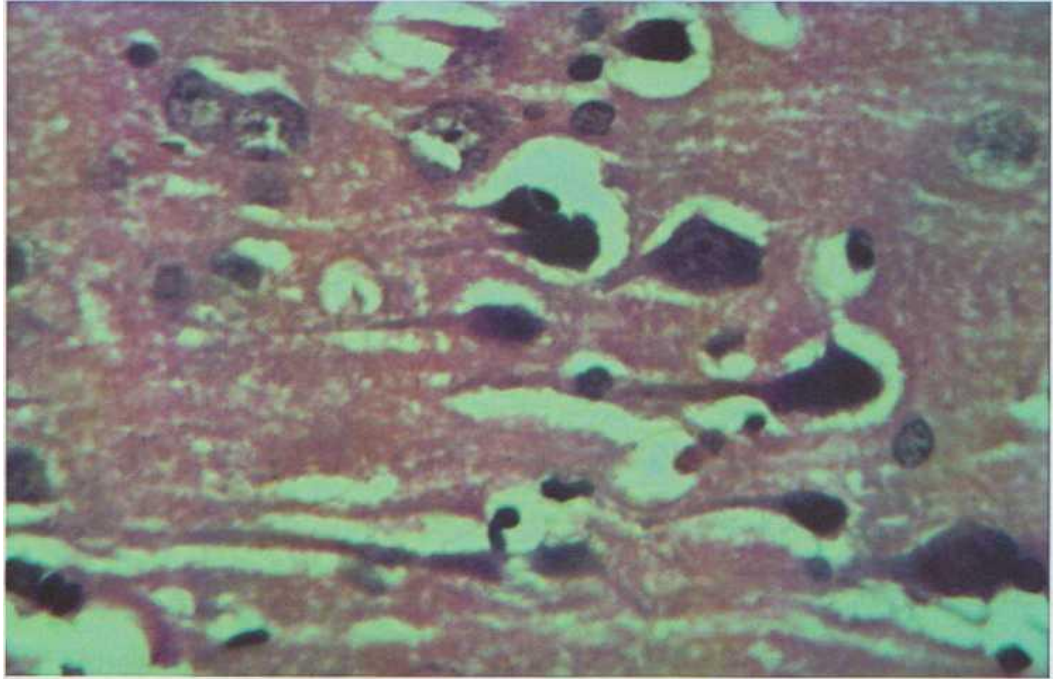


Рис. 3.12. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура групи контрольної патології на 21-шу добу БКО. Забарвлення гематоксилін- еозин. Окуляр x40. Об'єктив x10. Гіперхромні нейрони внутрішньої пірамідної пластинки. Виражений перицелюлярний набряк.

Поряд із наведеними морфологічними змінами, також відмічалось збільшення кількості нових гемокапілярів з розширеними просвітами, набряклими ендотеліоцитами та розпушеними базальними мембранами. Периваскулярні простори розширені. Навколо судин виражена лейкоцитарна інфільтрація та набряк сполучної тканини (рис. 3.13 та 3.14).



Рис. 3.13. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура групи контрольної патології на 21-шу добу БКО. Забарвлення гематоксилін-еозин. Окуляр x 10. Об'єктив x10. Великовогнищевий ішемічний інфаркт (↑).

При аналізі мікропрепаратів кори головного мозку щурів контрольної патології, паралельно до змін в МЦР, слід відмітити порушення цитоархітектоніки сенсомоторної ділянки кори великих півкуль та відсутність радіальної посмугованості. В нейронах виявляли ознаки коагуляційного некрозу, гомогенізацію та хроматоліз цитоплазми. В ядрах - каріопікноз та каріолізис, причому у переважній більшості ядерця не візуалізувались. У зовнішній пірамідній пластинці сенсомоторної ділянки кори великих півкуль переважали гіперхромні нейрони. Нейропіль мав грубозернисту структуру. Вогнища нейрональних інфарктів були помітно більших розмірів, ніж в попередньому терміні спостереження (3.12 – 3.14).

У вогнищах інфарктів була чітко виражена гіперплазія гліоцитів та наявні безклітинні ділянки гангліозних клітинних розріджень (рис. 3.13).

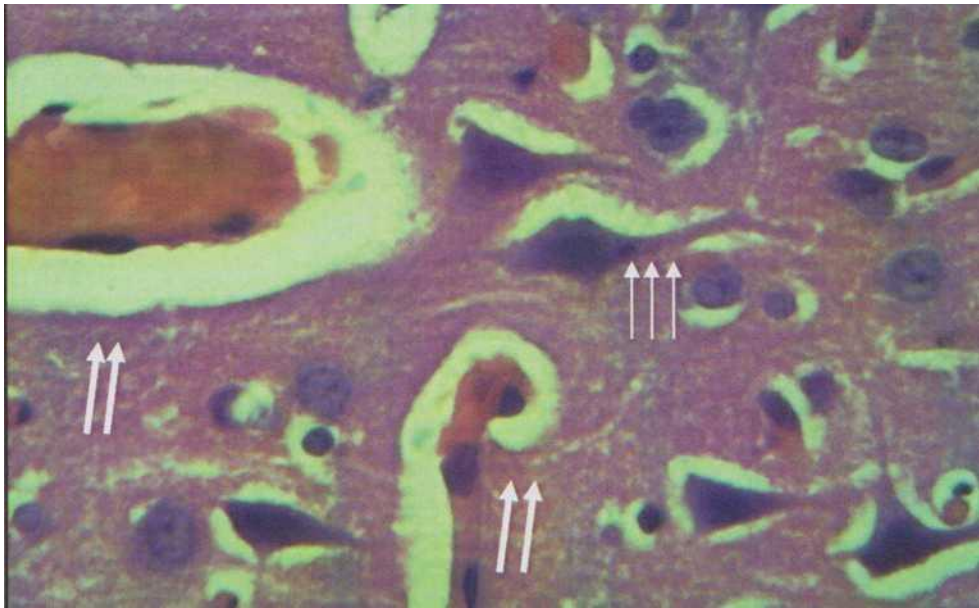


Рис. 3.14. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура групи контрольної патології на 21-шу добу БКО. Зabarвлення гематоксилін- еозин. Окуляр х 40. Об'єктив х10. Виразний периваскулярний (↑↑) та перицелюлярний набряк (↑↑↑)

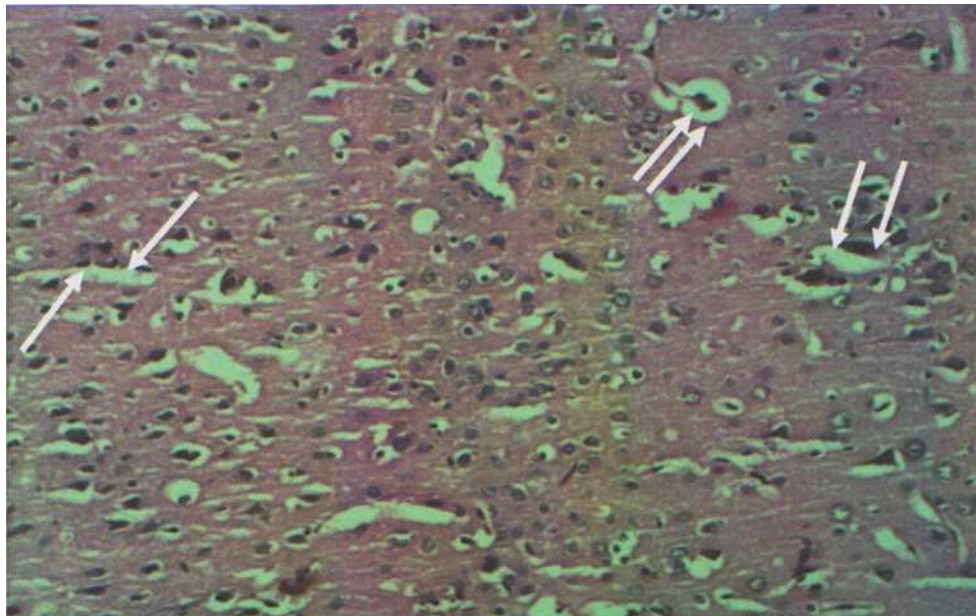


Рис. 3.15. Фрагмент сенсомоторної кори великих півкуль щура контрольної патології на 21-шу добу БКО. Зabarвлення гематоксилін-еозин. Окуляр х10. Об'єктив х10. Виразений периваскулярний (↑) та перицелюлярний набряк (↑↑)

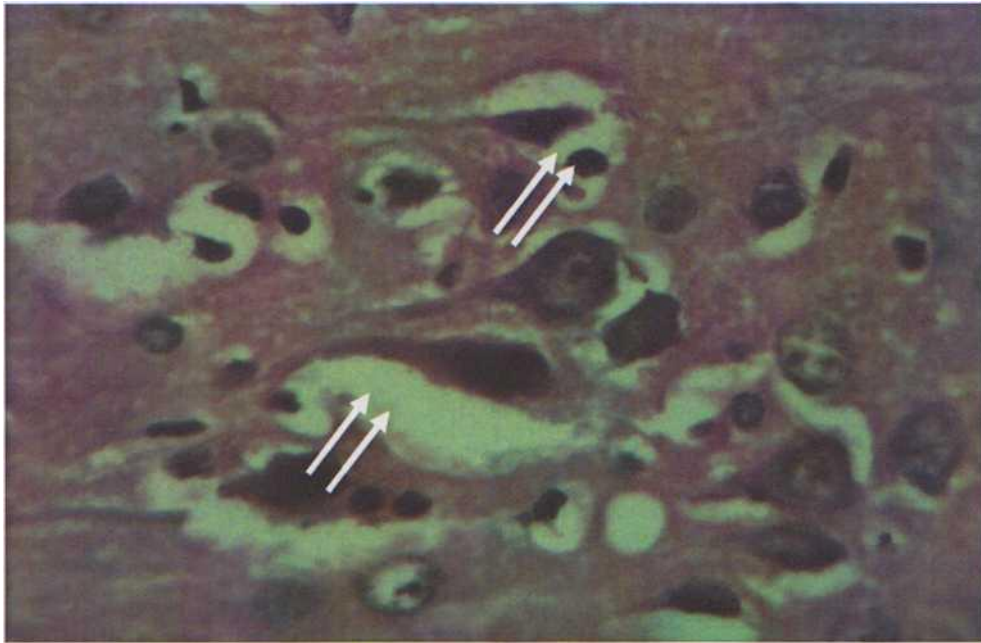


Рис. 3.16. Фрагмент сенсомоторної кори великих півкуль щура контрольної патології на 21-шу добу БКО. Забарвлення гематоксилін-еозин. Окуляр х40. Об'єктив х10. Виразений перичелюлярний набряк (↑↑).

Таким чином, відновлювальний період після БКО (21-ша доба) супроводжувався розвитком патоморфологічних змін в судинах кровоносного МЦР сенсомоторної зони кори великих півкуль щурів, а саме розширенням їх просвітів, повнокрів'ям, порушенням цілісності стінки кровоносних капілярів, вакуолярною дистрофією і некрозом ендотеліальної вистілки. Все це свідчить про порушення цілісності гематоенцефалічного бар'єру та підвищення його проникності.

Поряд з цим, при аналізі цитоархітектонічних особливостей структури досліджуваної ділянки головного мозку нелікованих щурів контрольної групи у відновлювальний період ГПМК відмічалась значна кількість некротизованих нейронів у всіх шарах сенсомоторної кори великих півкуль, поряд із збільшенням чисельності клітин нейроглії. Також, порівняно з 4-ою добою ішемії значно зростала кількість і площа ділянок некрозу нейронів, а

перехідна зона була більш широкою, ніж у попередньому терміні спостереження.

Морфологічно, через 4 доби після початку терапії **цитиколіном**, в структурах головного мозку щурів з ГПМК в цитоархітектонічній організації відмічались певні зміни, однак вони були менше виражені, ніж в контрольній групі тварин в аналогічний термін спостереження.

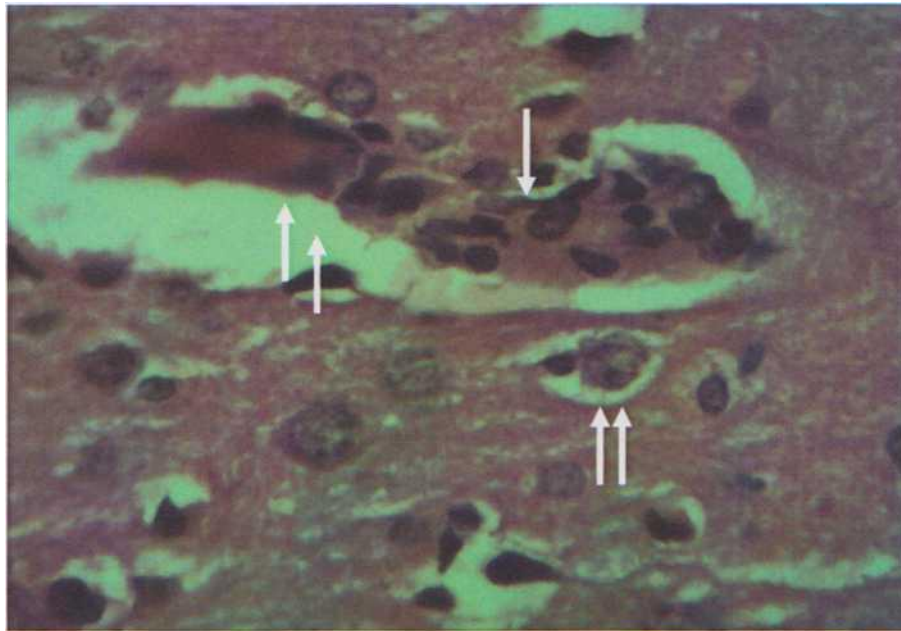


Рис. 3.17. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії цитиколіном (4-та доба експерименту). Зabarвлення гематоксилін-еозин. Окуляр х40. Об'єктив х10. Венозне повнокрів'я та діapedез лейкоцитів (↑). Незначний перицелюлярний набряк (↑↑).

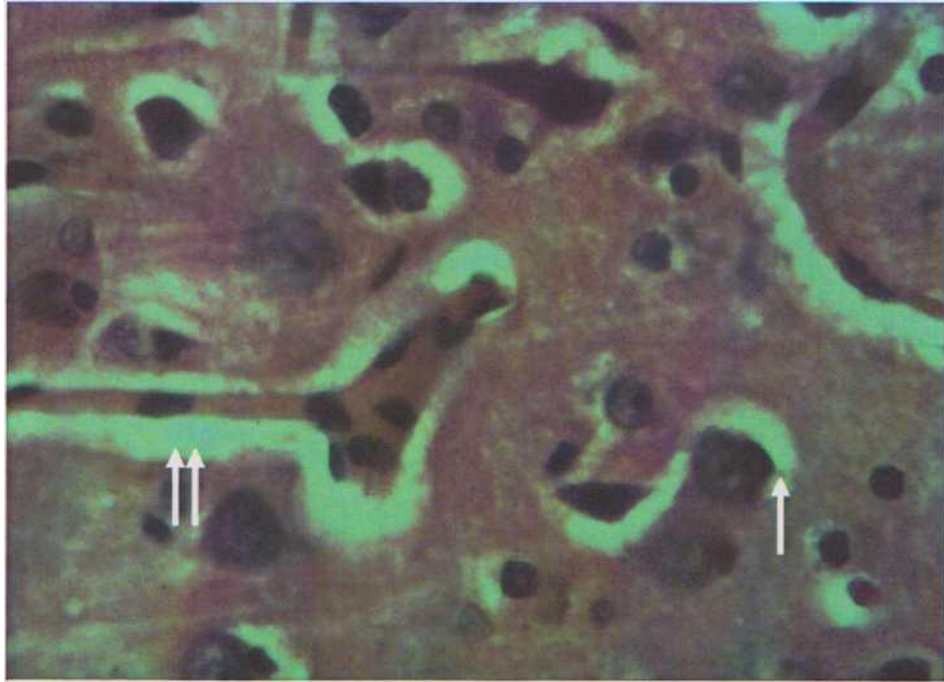


Рис. 3.18. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії цитиколіном (4-та доба експерименту). Забарвлення гематоксилін-еозин. Окуляр x40. Об'єктив x10. Незначний перичелюлярний (↑) та перивазальний набряк (↑↑).

Так, при оцінці мікроскопічної картини стану судин МЦР у венулах було помітне повнокрів'я та помірний діapedез лейкоцитів (рис. 3.17 та рис. 3.18).

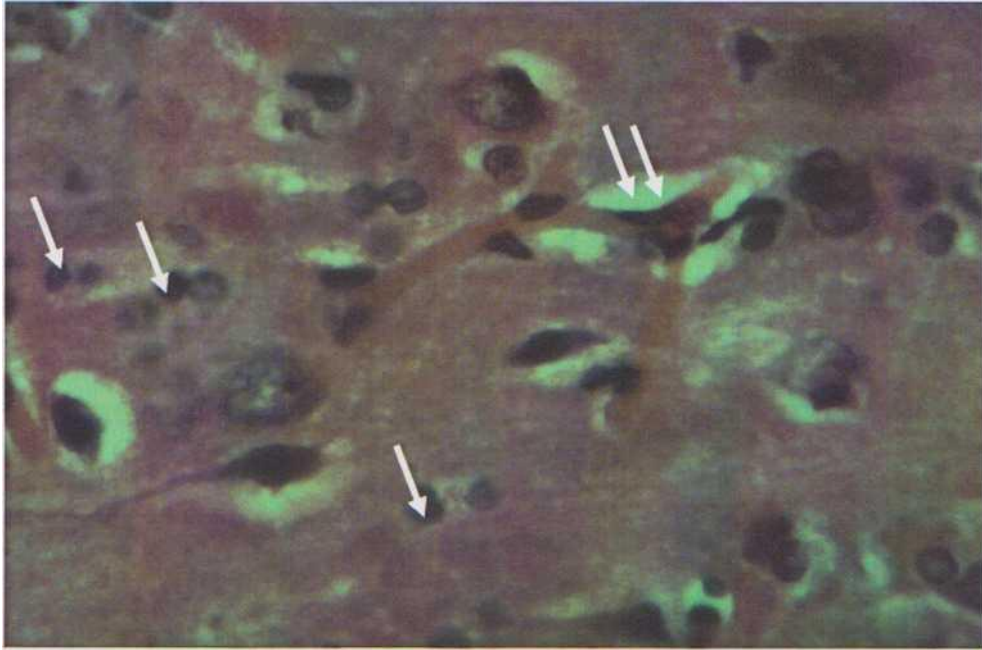


Рис. 3.19. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії цитиколіном (4-та доба експерименту). Зabarвлення гематоксилін-еозин. Окуляр х40. Об'єктив х10. Активація клітин нейроглії кори (↑) та периваскулярний набряк (↑↑).

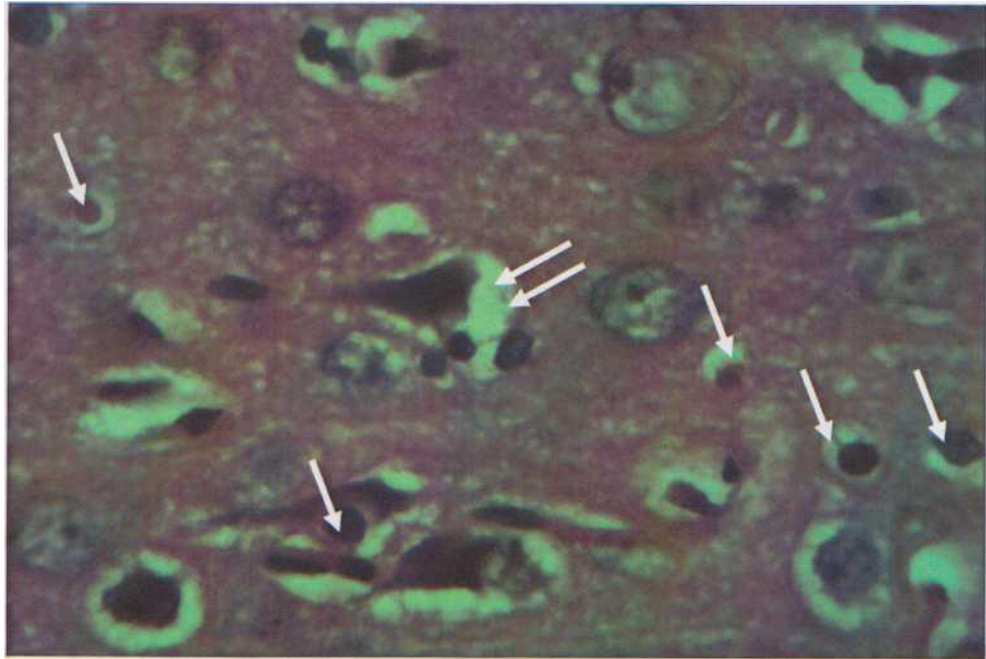


Рис. 3.20. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії цитиколіном (4-та доба експерименту). Забарвлення гематоксилін-еозин. Окуляр х40. Об'єктив х10. Активація клітин нейроглії кори (↑) та перицелюлярний набряк (↑↑).

Периваскулярний набряк незначний, в периваскулярних просторах розташовані поодинокі лейкоцити, тим часом, як в групі контрольної патології їх чисельність була значно більшою. Структура більшої частини нейронів подібна за будовою до таких у інтактних тварин. Однак, у всіх шарах сенсомоторної ділянки кори головного мозку була виражена гіперплазія клітин нейроглії. Вогнища інфарктів нейронів значно дрібніші, ніж у щурів з ГПМК, яким вводили лише фізіологічний розчин хлориду натрію, і виявлялись не у всіх полях зору. Фокальні ішемічні інфаркти мали меншу площу, ніж у тварин групи контрольної патології. Нейропіль мав дрібнозернисту структуру (рис. 3.17- 3.20).



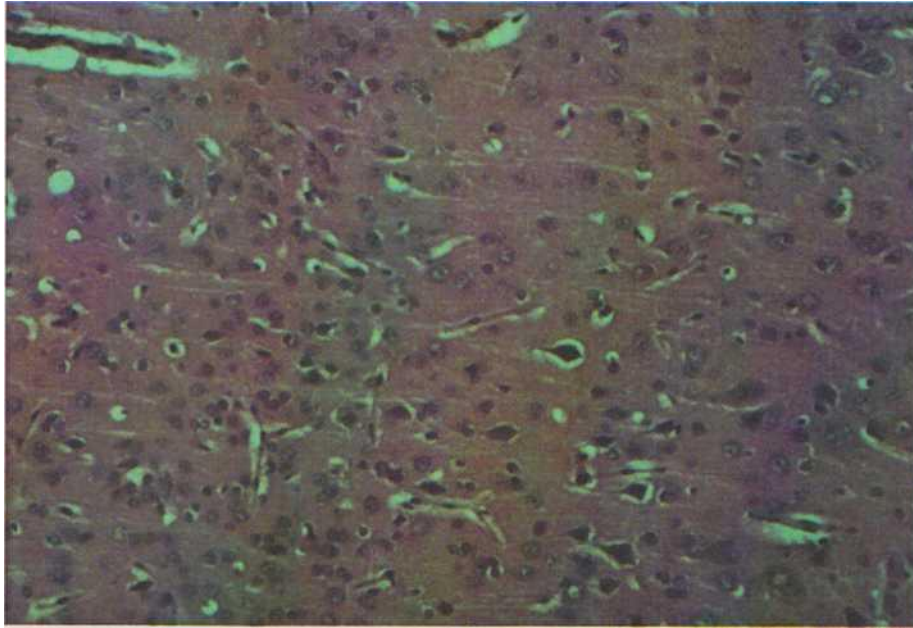


Рис. 3.21. Фрагмент сенсомоторної кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії цитиколіном (4-та доба експерименту). Забарвлення гематоксилін-еозин. Окуляр x10. Об'єктив x10. Радіальна посмугованість кори.

На 21 добу терапії модельного ГПМК в групі тварин, лікованих цитиколіном, патологічні зміни в соматосенсорній корі головного мозку, порівняно з контрольними щурами, були менш виразними. Так, більша частина нейронів цієї ділянки кори великих півкуль була нормохромною та мала чітко контуровані ядра, які містили одне, або два ядерця.

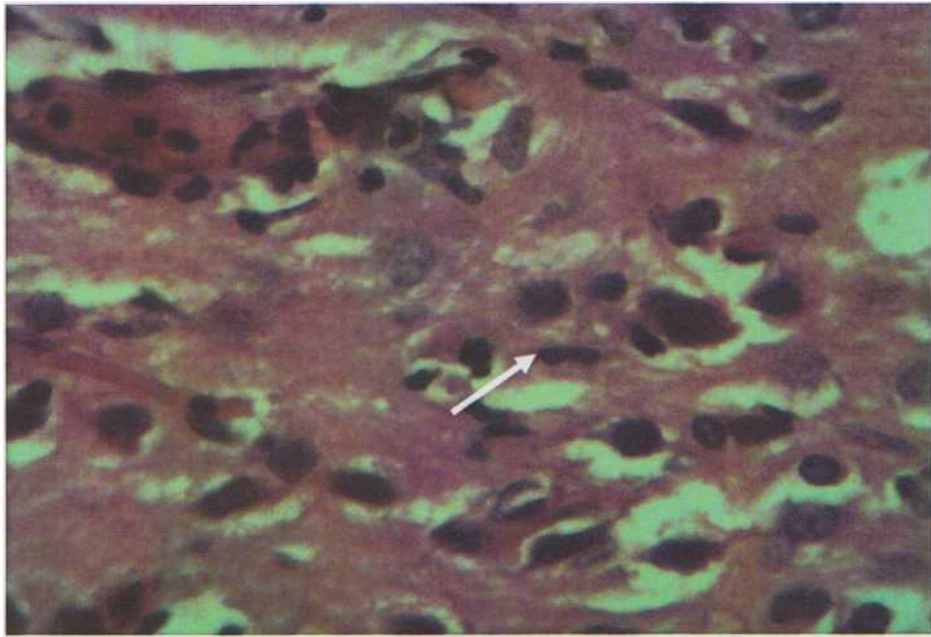


Рис. 3.22. Фрагмент сенсомоторної кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії цитиколіном (4-та доба експерименту). Забарвлення гематоксилін-еозин. Окуляр х40. Об'єктив х10. Вогнище інфаркту (↑).

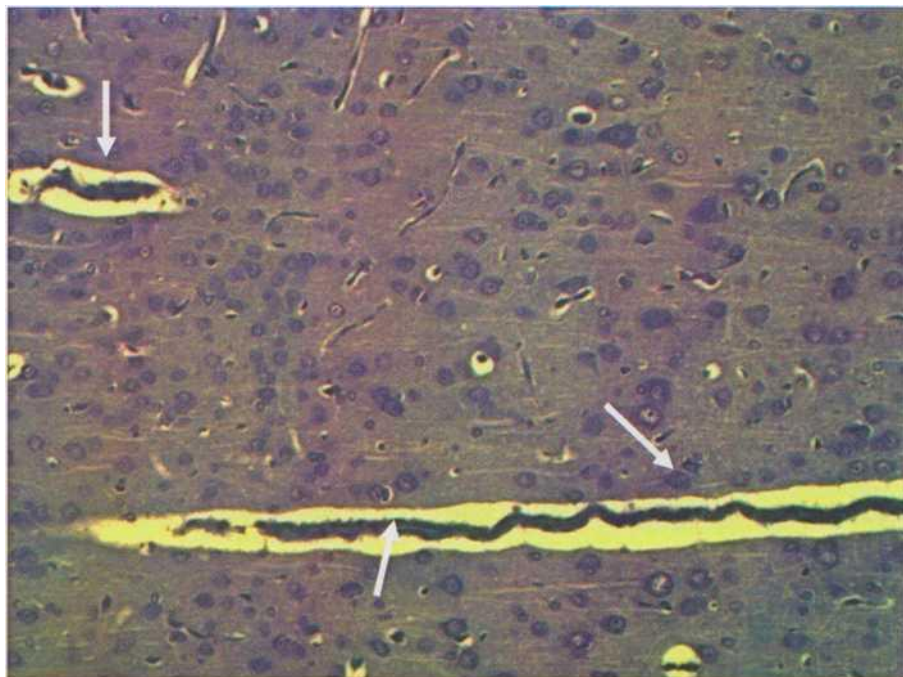


Рис. 3.23. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії цитиколіном (21-ша доба експерименту). Окуляр х10. Об'єктив х10. Забарвлення толуїдиновим синім. Периваскулярний набряк (↑).

Курсове лікування цитиколіном щурів з ГПМК не призводило до повного відновлення структури кори великих півкуль, однак, певним чином, сприяло пом'якшенню негативного впливу дії ішемічного чинника.

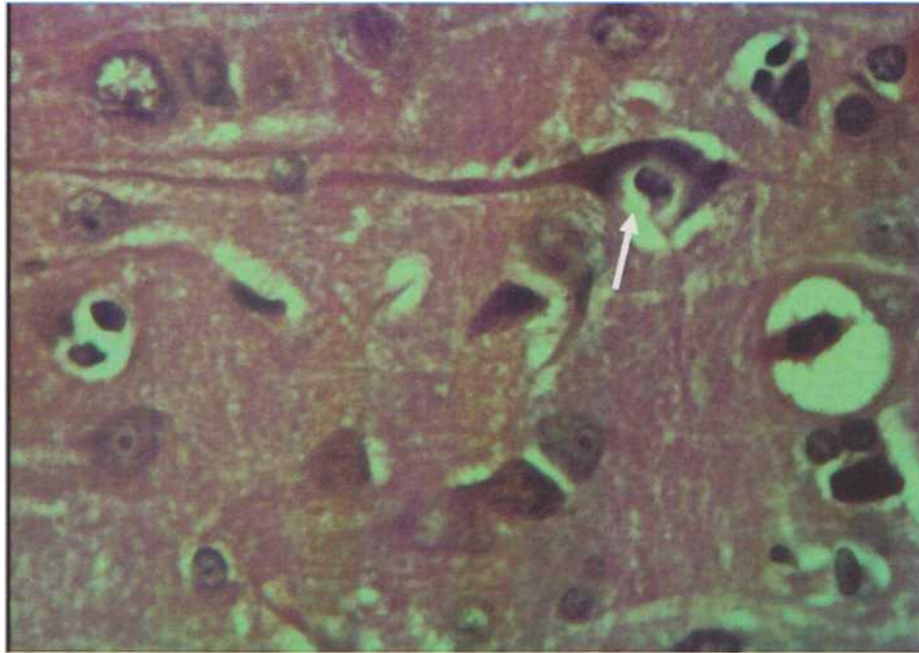


Рис. 3.24. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії цитиколіном (21-ша доба експерименту). Окуляр x40. Об'єктив x10. Забарвлення гематоксилін-еозин. Перинуклеарний набряк цитоплазми нейронів внутрішньої пірамідної пластинки (↑).

У ході мікроскопічного аналізу сомато-сенсорної кори великих півкуль головного мозку встановлено, що в умовах даного патологічного стану, введення цитиколіну супроводжується зменшенням дегенеративних та деструктивних змін в ендотеліоцитах стінок судин та нейронах кори (рис. 3.22-3.26).

Подібні позитивні зміни у морфологічній будові моторної кори на тлі курсового введення цитиколіну, дослідники відмічали як в

експериментальних умовах на різних моделях гострої церебральної ішемії, так і у клінічній практиці (В.В.Шведський та ін., 2012).

У нашому дослідженні, в умовах БКО експериментальна терапія щурів цитиколіном також приводила до збільшення кількості астроцитів, що вказує на активацію регенераторних та нейрореставраційних процесів в макроглії при ГПМК.

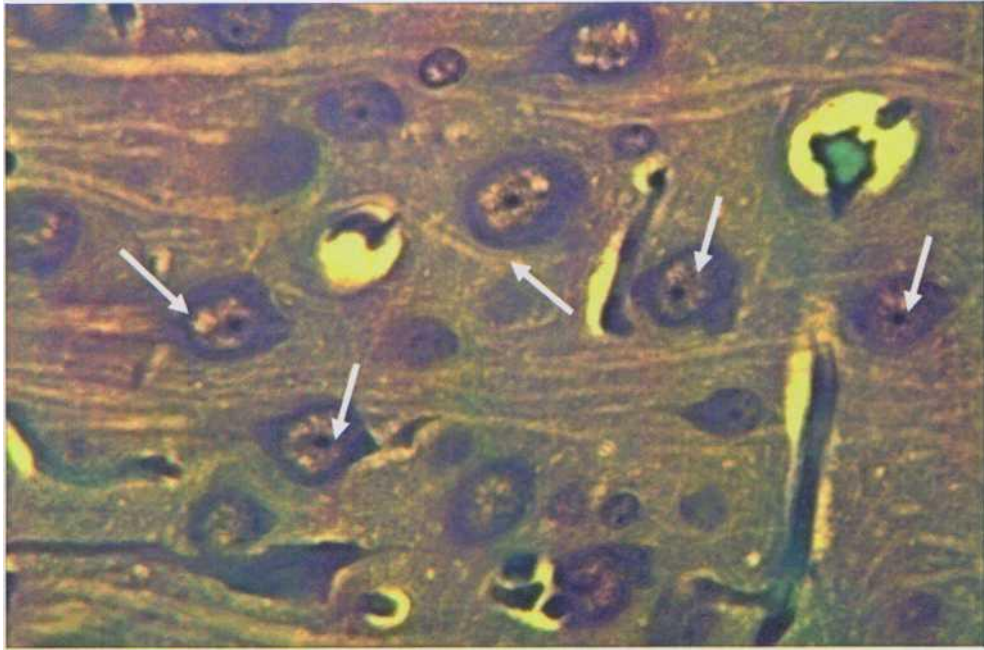


Рис. 3.25. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії цитиколіном (21-ша доба експерименту). Забарвлення толуїдиновий синій. Окуляр х.40. Об'єктив х10. Структура нейронів зовнішньої пірамідної пластинки (↑).

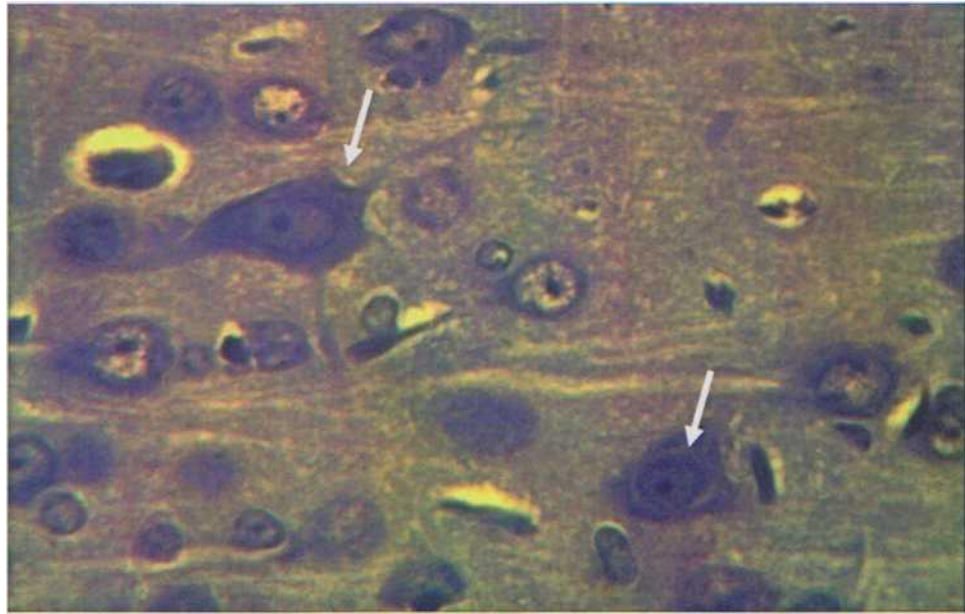


Рис. 3.26. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії цитиколіном (21-ша доба експерименту). Забарвлення толуїдиновий синій. Окуляр  $\times 40$ . Об'єктив  $\times 10$ . Структура нейронів внутрішньої пірамідної пластинки ( $\uparrow$ ).

На тлі чотириденної терапії **адемолом** щурів з БКО основна маса нейронів кори була зі збереженою структурою цитоплазми або з незначною деструкцією органел (рис. 3.27-3.39).

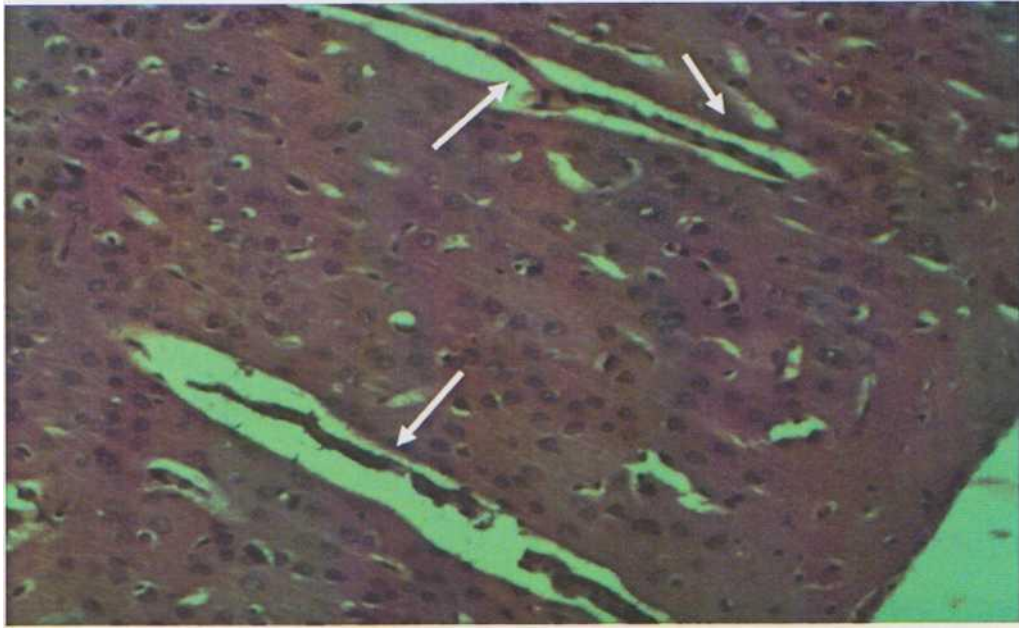


Рис. 3.27. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії адемолом (4-та доба експерименту). Забарвлення гематоксилін-еозин. Об'єктив x10. Окуляр x10. Збереження радіальної посмугованості нейронів. Незначний периваскулярний набряк (↑).



Рис. 3.28. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії адемолом (4-та доба експерименту). Забарвлення гематоксилін-еозин. Об'єктив x40. Окуляр x10. Незначний перинеурональний набряк (↑).

Спостерігався помірно виражений перинуклеарний хроматоз цитоплазми. При цьому переважали нормохромні нейрони з дифузно розташованим ядерним хроматином. Ядерця чітко контуруються і зміщені до фестончатої ядерної оболонки. Поряд з цим, порівняно з групою контрольних тварин та щурами, яким проводили терапію цитиколіном, мало місце зменшення кількості вакуолізованих ядер та перинеурального набряку. У зовнішній пірамідній пластинці кори виявляли поодинокі пошкоджені нейрони та ділянки розріджень, однак перехідна зона навколо них була значно менше вираженою, ніж у контрольних тварин. Фокальні ішемічні інфаркти зустрічались значно рідше і мали порівняно меншу площу ніж в контрольній групі тварин та у щурів, яким вводили цитиколін (рис. 3.28-3.30). Судини кровоносного МЦР були помірно повнокровними. В артеріолах спостерігалось незначне нагрубання ендотеліоцитів, однак вогнища десквамації при цьому були відсутні (рис. 3.27; 3.32 та 3.33).

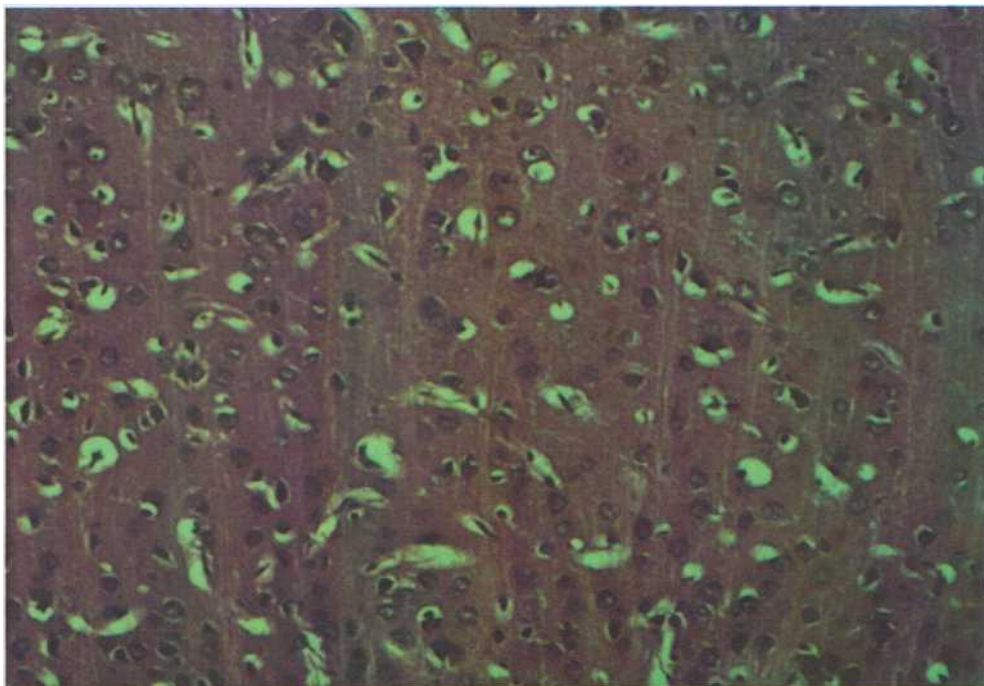


Рис. 3.30. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії адемолом (4-та доба експерименту). Об'єктив x10. Окуляр x10. Забарвлення гематоксилін-еозин. Наявна радіальна посмугованість кори.

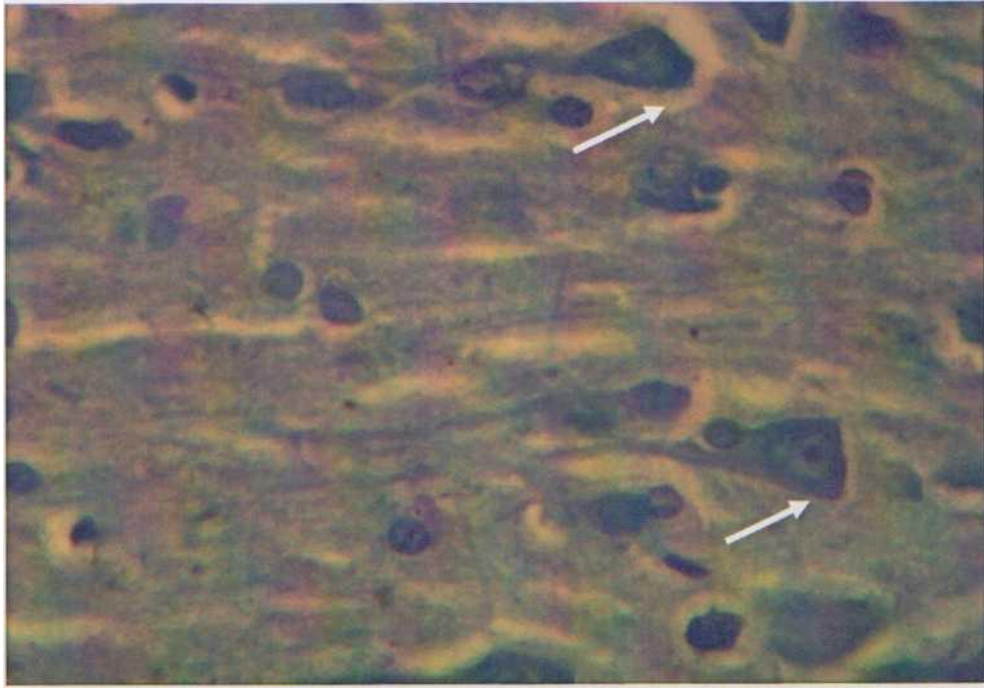


Рис. 3.31. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії адемолом (4-та доба експерименту). Об'єктив x40. Окуляр x10. Забарвлення толуїдиновий синій. Незначний перинеурональний набряк (↑).

На відміну від тварин групи контрольної патології на тлі адемолу чисельність капілярів була більшою, їх просвіти розширені.



Рис. 3.32. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з на ті терапії адемолом (4-та доба експерименту). Забарвлення гематоксилін-н. Об'єктив x40. Окуляр x10. Незначний периваскулярний набряк (↑).



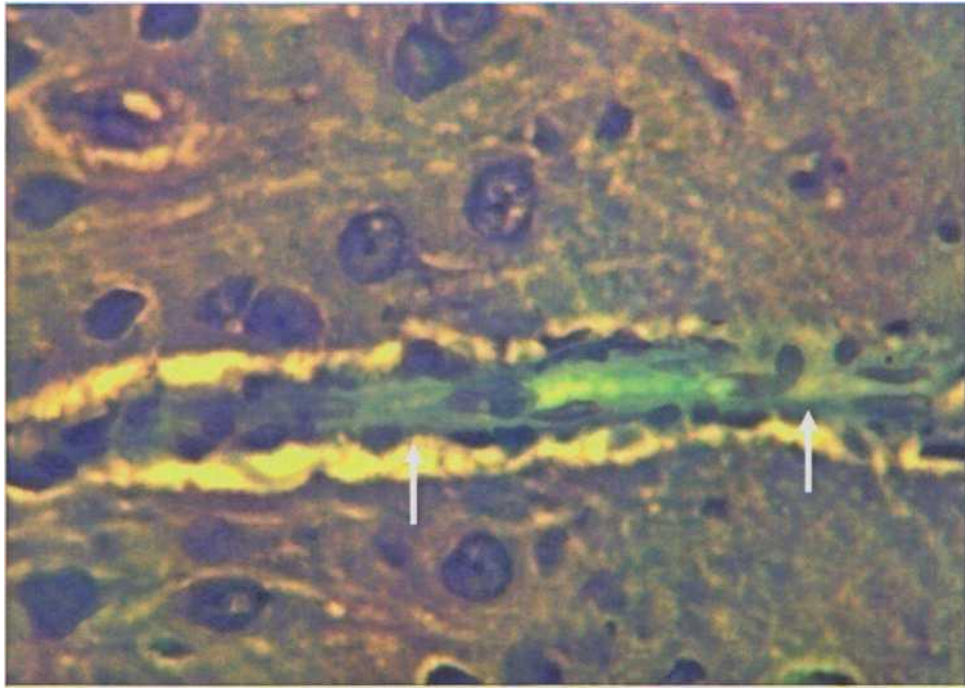


Рис. 3.33 . Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії адемолом (4-та доба експерименту). Забарвлення толуїдиновий синій. Об'єктив x40. Окуляр x10. Незначний периваскулярний набряк (↑).

Гістіолімфоцитарна інфільтрація і периваскулярний набряк інтерстицію також були виражені значно менше порівняно з групою контрольної патології та групою цитиколіну (рис. 3.31-3.33)

На 21-шу добу на тлі лікування щурів з ГПМК адемолом радіальна посмугованість в корі була збережена (рис. 3.34). Судини кровоносного МЦР нормального кровонаповнення. Ендотеліальна вистілка в їх стінках повністю збережена. При цьому, периваскулярний набряк не спостерігався, хоча навколо деяких капілярів і мала місце незначна лейкоцитарна інфільтрація.

Кількість кровоносних капілярів, порівняно з попереднім терміном спостереження, групою контролю та референс-препаратом суттєво підвищилась (рис. 3.35).

Більшість нейронів нормохромного типу, набряк цитоплазми відсутній. У зовнішній пірамідній пластинці сенсомоторної кори головного мозку зустрічались незначні ділянки розрідження нейронів, однак, на відміну від групи щурів, які отримували цитиколін, навколо таких відсутня перехідна зона і лейкоцитарна інфільтрація (рис. 3.35 та 3.36).

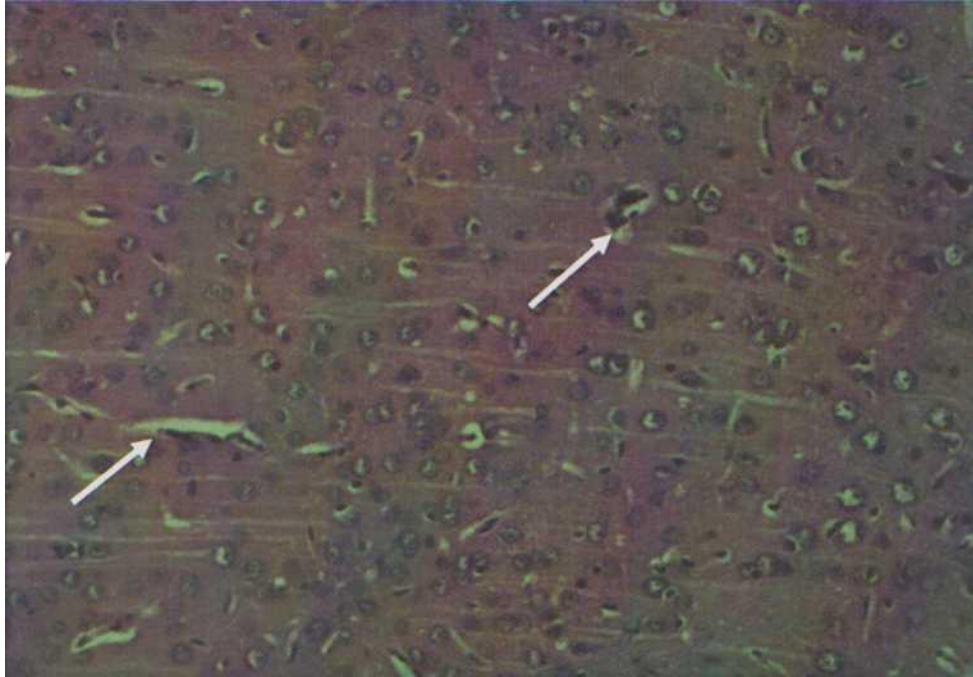


Рис. 3.34. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії адемолом (21-ша доба експерименту). Забарвлення гематоксилін-еозин. Об'єктив x10. Окуляр x10. Незначний периваскулярний набряк (↑). Радіальна посмугованість кори.

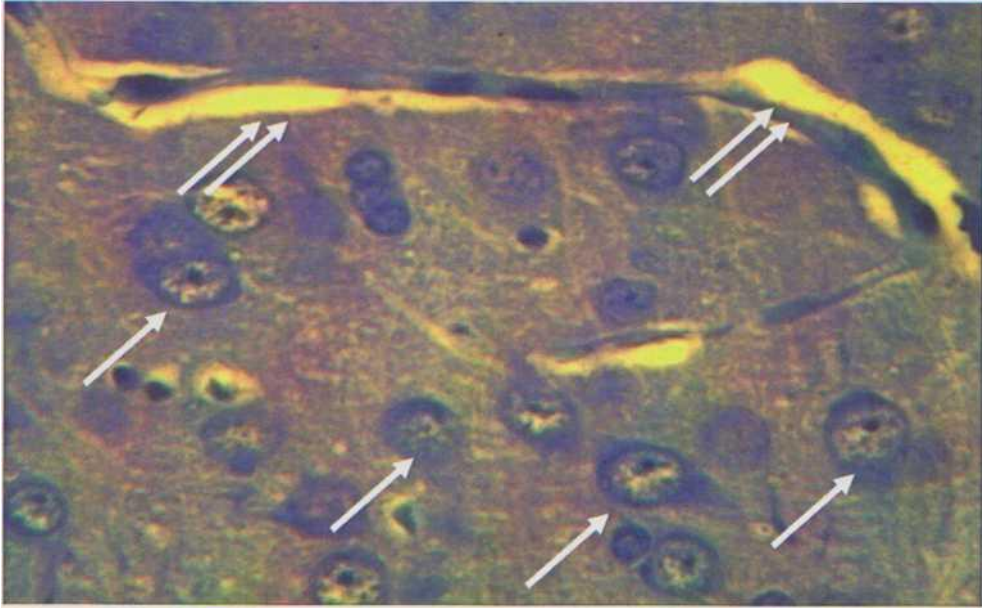


Рис. 3.35. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії адемолом (21-ша доба експерименту). Зabarвлення толуїдиновий синій. Об'єктив x40. Окуляр x10. Нормохромні нейрони (↑). Незначний периваскулярний набряк (↑↑).

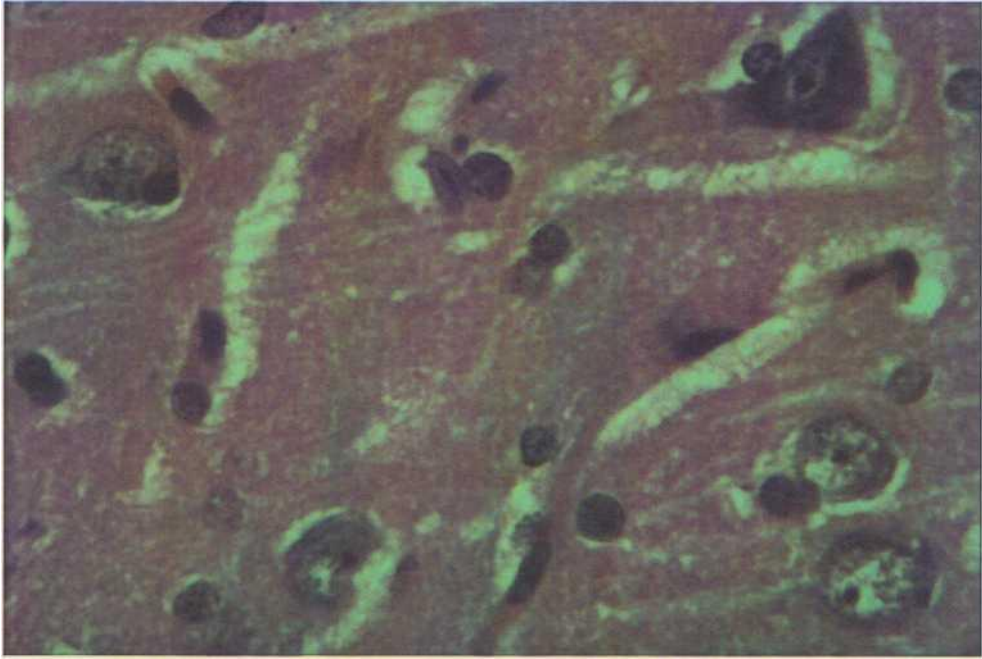


Рис. 3.36. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії адемолом (21-ша доба експерименту). Забарвлення гематоксилін-еозин. Об'єктив x40. Окуляр x10. Відсутня перехідна зона і лейкоцитарна інфільтрація.

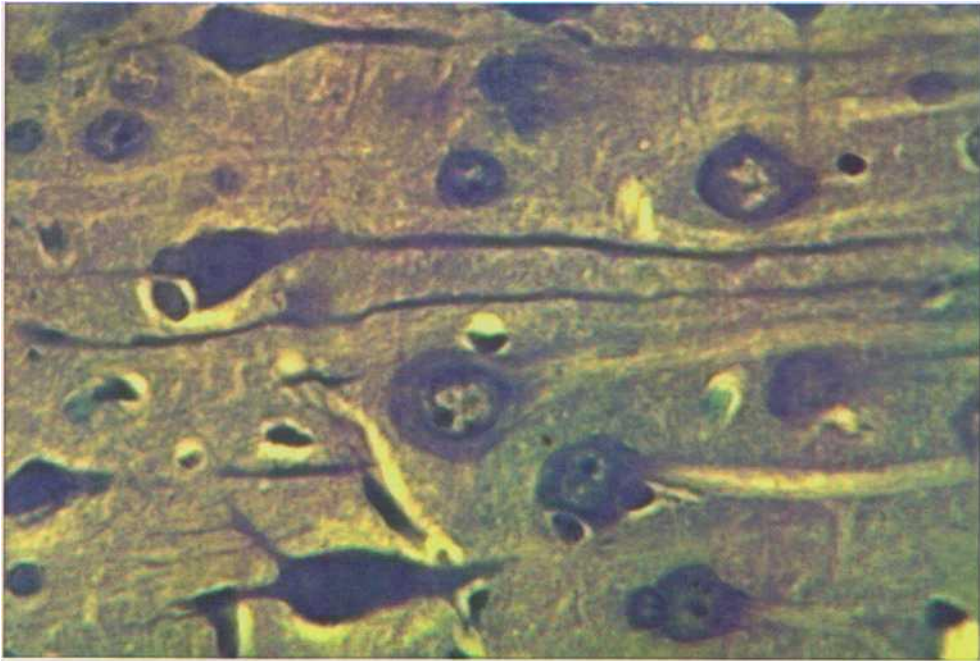


Рис. 3.37. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії адемолом (21-ша доба експерименту). Забарвлення толуїдиновий синій. Об'єктив x40. Окуляр x10.

У внутрішній пірамідній пластинці більшість нейронів була збережена, клітини нормохромного типу з ознаками функціональної активності.

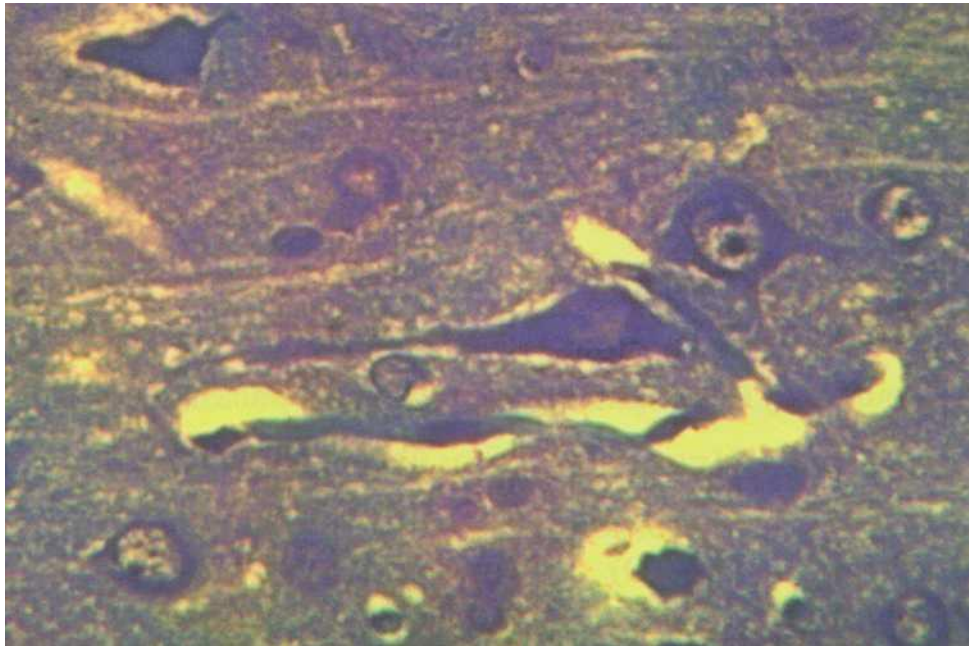


Рис. 3.38. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії адемолом (21-ша доба експерименту). Об'єктив x40. Окуляр x10. Зabarвлення толуїдиновий синій. Структура гігантських пірамідних нейронів у внутрішній пірамідній пластинці.

В нейронах помітна інвагінація ядерної оболонки, хроматин просвітлений, ядрця добре виражені (рис. 3.37-3.38).

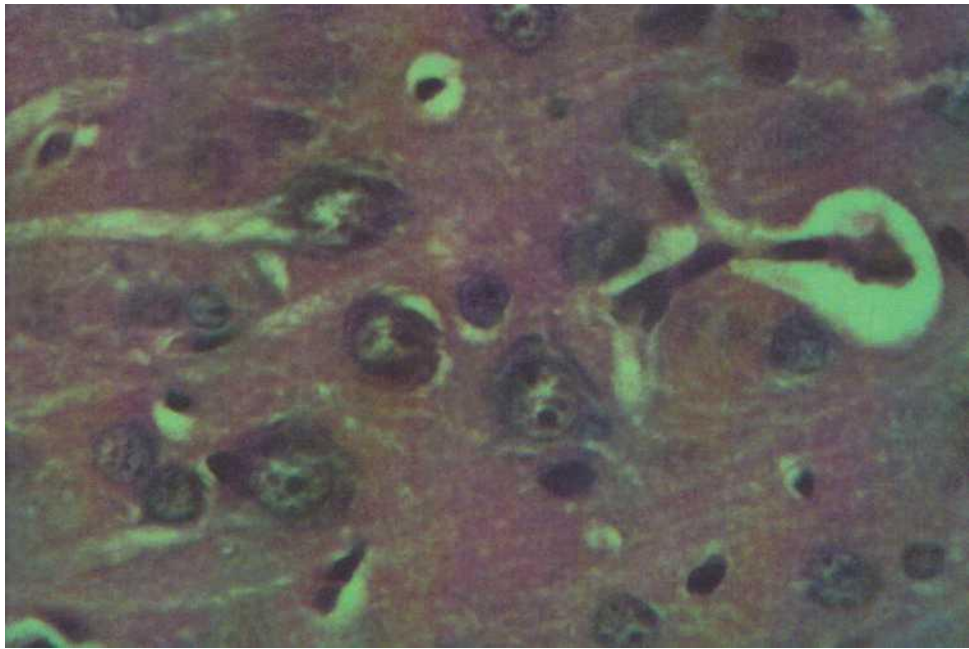


Рис. 3.39. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щура з БКО на тлі терапії адемолом (21-ша доба експерименту). Об'єктив x40. Окуляр x10. Забарвлення гематоксилін-еозин. Структура гігантських пірамідних нейронів у внутрішній пірамідній пластинці.

У табл. 3.9 представлені зміни мікроморфометричних показників кори головного мозку щурів на тлі терапії досліджуваними речовинами.

Таблиця 3.9

**Динаміка змін мікроморфометричних показників соматосенсорної кори головного мозку щурів із гострою церебральною ішемією (шар IV-V) на тлі лікувального внутрішньоочеревинного введення адемолу, 2 мг/кг та цитиколіну (250 мг/кг) ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )**

Групи тварин	Щільність нейронів (на 1 мм)	Площа нейронів (мкм <sup>2</sup> )	Вміст НК (ОДоґ)	Щільність деструктивно змінених нейронів (на 1 мм)
Інтактні тварини	1482,20±12,30	75,13±0,45	9,80±0,15	84,40± 1,86
4 доба				
ГПМК+ 0,9% NaCl (контрольна патологія)	904,50±11,12* (-38,98 %)	62,85±1,80* (-16,35 %)	4,92±0,14* (-49,80 %)	402,50±12,68* (+376,90 %)
ГПМК +адемомл	1141,30±20,66* <sup>^</sup> (-23,00 %) [+26,18 %]	70,00±0,45* <sup>^</sup> (-6,83 %) [+13,76 %]	5,80±0,11* <sup>^</sup> (-40,82 %) [+17,88 %]	317,30±1 1,25* <sup>^</sup> (+275,95 %) [-21,17%]
ГПМК + цитиколін	1000,10±10,88* <sup>#</sup> (-32,53 %) [+10,57 %]	66,91±0,70* (-10,95%) [+6,46 %]	5,14±0,06* (-47,56%) [+4,47 %]	356,90±3,54* <sup>#</sup> (+322,86 %) [-11,33%]
21 доба				
ГПМК+ 0,9% NaCl (контрольна патологія)	1001,90±13,83* <sup>•</sup> (-32,41 %)	67,44±0,57* <sup>•</sup> (-10,24 %)	5,85±0,11* <sup>•</sup> (-40,31 %)	389,50±4,38* <sup>•</sup> (+361,49 %)
ГПМК + (адемомл)	1284,90±5,47* <sup>#</sup> (-13,32 %) [+28,25 %]	70,56±0,38* <sup>#</sup> (-6,09 %) [+4,62 %]	7,30±0,08* <sup>•</sup> (-25,52%) [+24,79 %]	293,60±6,14* (+247,87 %) [-24,62 %]
ГПМК + цитиколін	1273,00±10,44* <sup>#</sup> (-14,12%) [+27,05 %]	70,94±0,33* <sup>#</sup> (-5,58 %) [+5,19 %]	7,58±0,11* <sup>•</sup> (-22,66%) [+29,57 %]	284,60±4,13* <sup>•</sup> (+237,20 %) [-26,93 %]



## Примітки:

1. НК - нуклеїнові кислоти;
2. ОДог- одиниці оптичної густини;
3. \* -  $p < 0,05$  відносно показника інтактних щурів;
4. # -  $p < 0,05$  відносно показника контрольної патології;
5. ^ -  $p < 0,05$  відносно показника групи цитиколіну;
6. • -  $p < 0,05$  відносно 4 доби;
7. У круглих дужках - зміни (%) відносно показника інтактних щурів;  
У квадратних дужках - відносно показника тварин з ГПМК, яким вводили 0,9 % розчин NaCl (контрольна група).

Проведене дослідження показало, що модельне ГПМК супроводжувалось вірогідним (порівняно з інтактними тваринами) зменшенням щільності нейронів кори головного мозку щурів у середньому на 38,98% на 4-ту добу та на 32,41% на 21-шу добу (табл. 3.9).

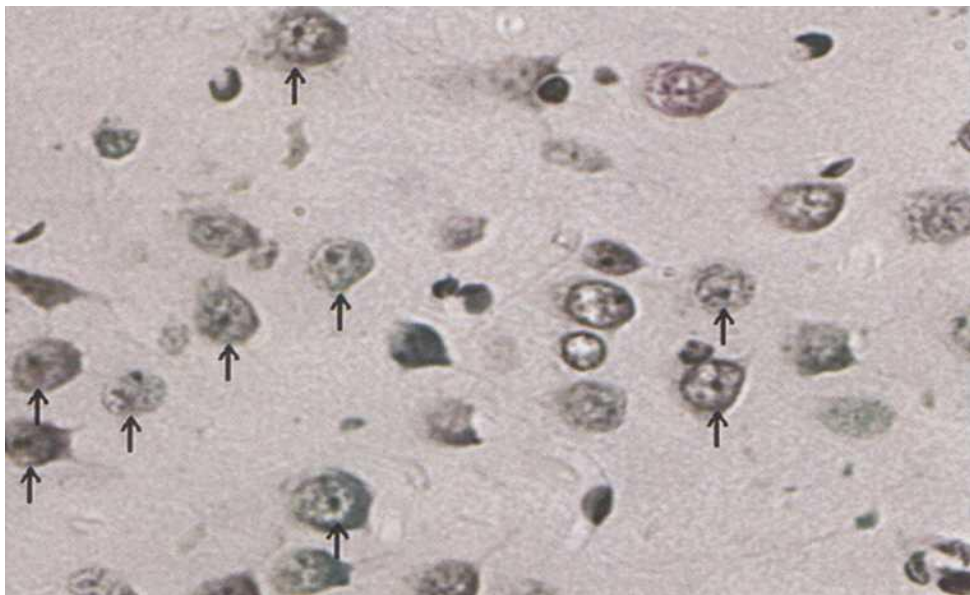


Рис. 3.40. Соматосенсорна кора псевдооперованого щура. Відсутність нейрональної деструкції (каріопікнозу, каріорексису, цитолізу). Більшість нейроцитів містить ядерце (↑). Забарвлення за Ейнарсеном, х 600.

Введення щурам із ГПМК адемолу, як і цитиколіну, вже на 4 добу після ішемії перешкоджало зниженню деструкції нейронів.

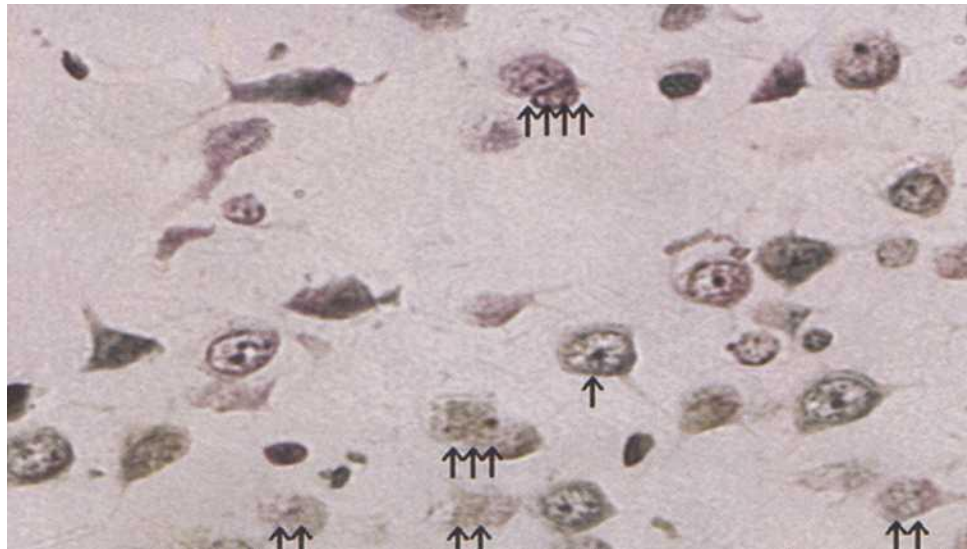


Рис. 3.41. Соматосенсорна кора щура на 4-ту добу білатеральної каротидної оклюзії (контрольна патологія). Зменшення щільності неушкоджених (↑) та збільшення кількості деструктивно-змінених нейронів - цитоліз (↑↑), кариорексис (↑↑↑) та каріопікноз (↑↑↑↑)Забарвлення за Ейнарсомом, х 600.

Так, у зазначеному періоді експерименту щільність нейронів у цих тварин була в середньому на 26,18% та 10,57% відповідно вищою, ніж у контрольній групі ( $p < 0,05$ ).

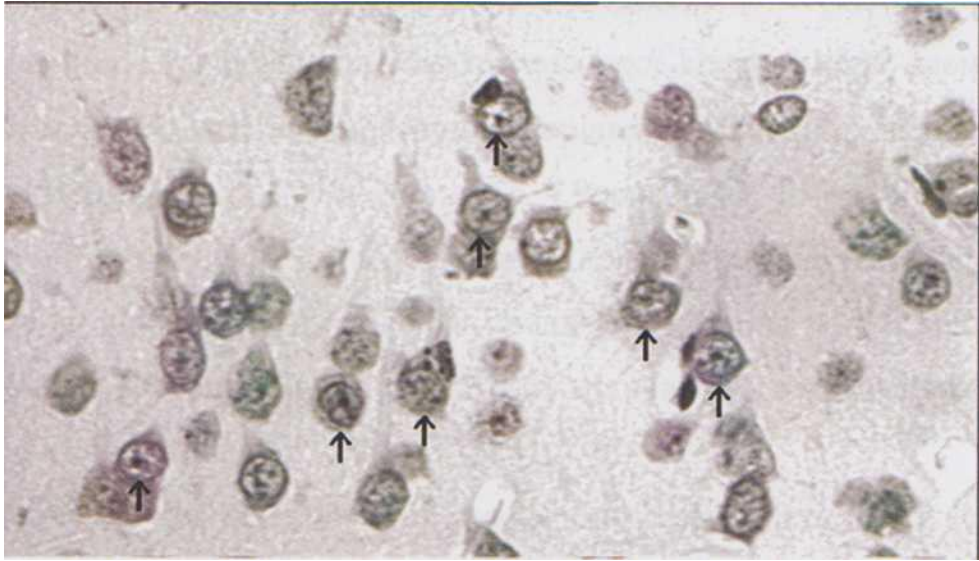


Рис. 3.42. Соматосенсорна кора щура 4-ту добу після необоротної білатеральної каротидної оклюзії на тлі курсової терапії адемолом (2 мг/кг, в/о). Збільшення щільності неушкоджених нейронів (I), які містять ядро (↑). Зменшення кількості деструктивно-змінених нейроцитів. Зabarвлення за Ейнарсоном, х 600.



Рис. 3.43. Соматосенсорна кора щура на 4-ту добу після необоротної білатеральної каротидної оклюзії на тлі курсової терапії цитиколіном (250 мг/кг, в/о). Збільшення щільності неушкоджених нейронів (↑), які містять ядрець (↑). Зменшення кількості деструктивно-змінених нейроцитів. Забарвлення за Ейнарсоном, х 600.

Причому за зазначеною властивістю адемола вірогідно переважав цитиколін у 1,14 рази (див. табл. 3.9; рис. 3.40 - 3.43).

У відновному періоді за ефективністю адемола не поступався референс-препарату - щільність нейронів сомато-сенсорної ділянки кори ішемізованого головного мозку була вірогідно вищою порівняно з контролем в середньому відповідно на 28,25% та 27,05% (див. табл. 3.9; рис. 3.42 - 3.44).

У ході проведеного експерименту також встановлено, що ішемія призводила до вірогідного зменшення площі тіл нейронів у корі в середньому на 16,35% на 4 добу ішемії та на 10,24% у відновному періоді в порівнянні з інтактними тваринами (табл. 3,9; рис. 3.44 - 3.46).

Водночас, у нейронах спостерігалось зниження вмісту НК у середньому на 49,80 % на 4 добу ГПМК та на 40,31 % (21 доба) порівняно з інтактними тваринами,  $p < 0,05$  (табл. 3.9). Подібні зміни віддзеркалювали характер ішемічного ушкодження нейроцитів, що виражалось у виснаженні вмісту пластичних компонентів клітин. Тенденцію до нормалізації досліджуваних показників наприкінці терміну спостереження можна пояснити активацією репаративних процесів та захисних механізмів.

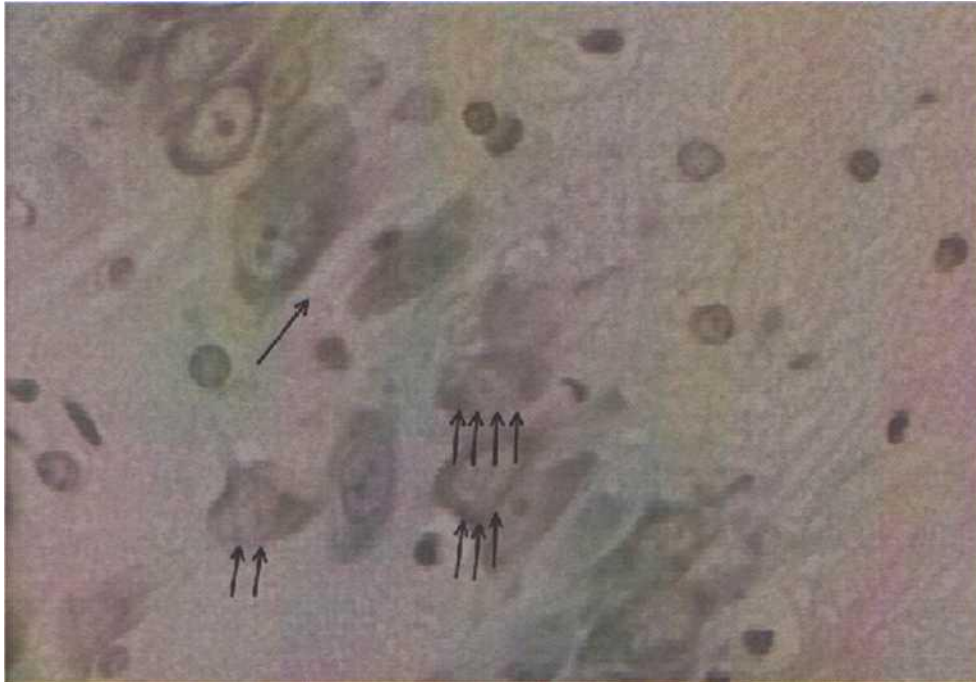


Рис. 3.44. Соматосенсорна кора щура на 21-шу добу після необоротної білатеральної каротидної оклюзії (контрольна патологія). Зменшення щільності неушкоджених ( $\uparrow$ ) та збільшення кількості деструктивно-змінених нейронів з ознаками цитолізу ( $\uparrow\uparrow$ ), каріорексису ( $\uparrow\uparrow\uparrow$ ) та каріопікнозу ( $\uparrow\uparrow\uparrow\uparrow$ ). Забарвлення за Ейнарсоном,  $\times 600$ .

Вже на 4-ту добу лікувального введення адемола ліпше за референс-препарат протидіяв зменшенню площі тіл нейронів та вмісту в них НК: ці показники були вірогідно більшими порівняні з показниками групи

контрольної патології у середньому відповідно на 13,76% та 17,88%, а з показниками щурів, які отримували цитиколін, відповідно на 7,3% та 13,4% (табл. 3.9; рис. 3.40 та 3.41). У відновному періоді (21-ша доба ГПМК) на тлі адемола мала місце тенденція до поступового збільшення площі тіл нейронів, яка супроводжувалась вірогідним збільшенням вмісту в них НК у середньому на 25,9% порівняно з першим терміном спостереження (табл. 3.9).

На відміну від адемола, лише на 21-шу добу після початку терапії цитиколіном вдалось досягнути підвищення вмісту в нейронах НК у середньому на 29,57% відносно контролю, що відповідало ефекту досліджуваного похідного адамантану у цей період спостереження. За спроможністю зберігати площу нейронів станом на 21-шу добу ішемії обидві речовини також були близькими за ефективністю (табл. 3.9; рис. 3.43 та 3.44).

Аналіз щільності деструктивно змінених нейронів у корі ішемізованого головного мозку у тварин з ГПМК, яким вводили 0,9% розчин NaCl показав, що кількість ушкоджених нейронів вже на 4-ту добу після моделювання патології порівняно з інтактними тваринами вірогідно збільшилась у 4,8 рази. У відновному періоді ішемії даний показник знизився, що пояснюється лізисом частини загиблих клітин (табл. 3.9).

На противагу цьому, адемола гальмував зростання кількості деструктивно змінених нейронів у щурів з ГПМК вже у гострому періоді (4-та доба) ішемії: їх кількість була в середньому на 21,17% меншою, ніж у нелікованих щурів та на 11,1% нижчою, ніж у тварин, яких лікували цитиколіном ( $p < 0,05$ ).

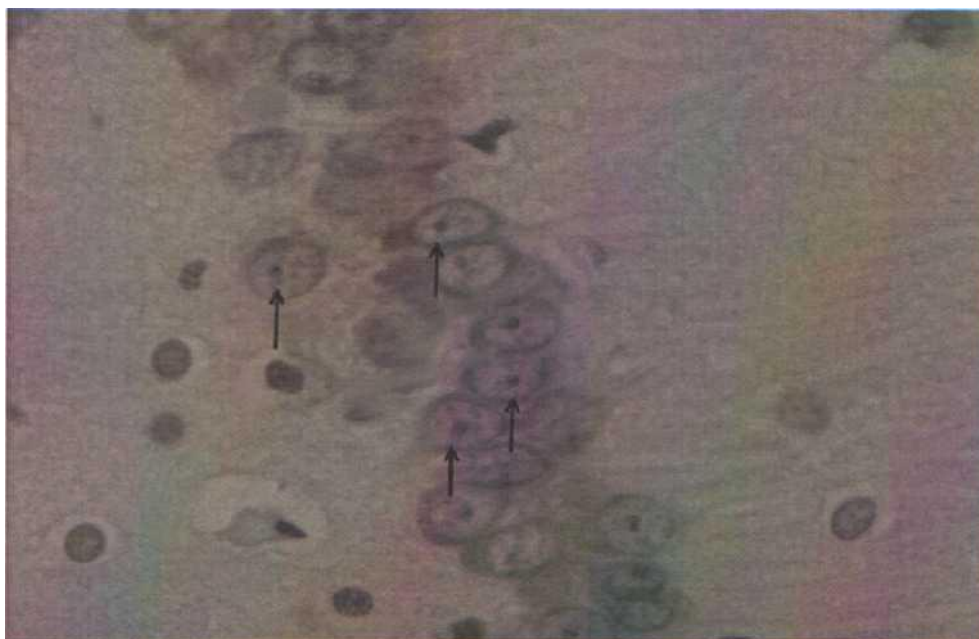


Рис. 3.45. Соматосенсорна кора щура 21-шу добу після необоротної білатеральної каротидної оклюзії на тлі курсової терапії адемолем (2 мг/кг, в/о). Збільшення щільності неушкоджених нейронів (↑), які містять ядрце (↑). Зменшення кількості деструктивно-змінених нейроцитів. Зabarвлення за Ейнарсонем, х 600.



Рис. 3.46. Соматосенсорна кора щура 21-шу добу після необоротної білатеральної каротидної оклюзії на тлі курсової терапії цитиколіном (250 мг/кг, в/о). Збільшення щільності неушкоджених нейронів (↑), які містять ядерце (↑). Зменшення кількості деструктивно-змінених нейроцитів. Забарвлення за Ейнарсомом, х 600.

До 21-ї доби після моделювання ішемії кількість деструктивно змінених нейронів на тлі адемолу та референс-препарату ще більше знизилась і була відповідно на 24,62% та 26,93% меншою, ніж у групі контрольної патології (табл. 3.9; рис. 3.42 - 3.44). Слід зазначити, що наявність деструктивно змінених нейронів у інтактних тварин - явище звичайне, обумовлене природною загибеллю клітин. При ішемії, такі клітини підлягають загибелі у першу чергу (В.В. Войткова, 2010).

Інтегральним показником ефективності досліджуваних речовин може служити індекс покращання виживаності (відношення щільності виживших нейронів на тлі терапії адемолом або цитиколіном до щільності неушкоджених нейронів у контрольній групі). Оскільки частина деструктивно-змінених



нейронів ще до проведення гістологічного дослідження вже була фагоцитована клітинами мікроглії, окремо проводилась оцінка індексу відносної активності мікроглії.

Величина обох індексів більше одиниці свідчила про позитивний вплив на нейрони ішемізованого головного мозку, менше одиниці - про негативний.

Як видно з табл. 3.10, лікувальне курсове введення щурам із ГПМК адемолу, як і цитиколіну, приводило до послаблення процесів нейрональної загибелі (в обох випадках індекс покращання виживаності нейронів був більше одиниці). При цьому за величиною захисного впливу на нейрони соматосенсорної кори як у ранньому, так і у відновному періоді адемомол перевершував референс-препарат: індекс покращання виживаності нейронів на 4-ту добу становив відповідно 1,26 та 1,11, а наприкінці терміну спостереження 2,78 та 2,09. Терапія щурів із гострою церебральною ішемією адемомолом та меншою мірою цитиколіном стимулювала активність мікрогліальних клітин, що суттєво підвищувало швидкість елімінації загиблих нейронів. На користь такого твердження свідчить підвищення індексу відносної активності мікроглії більше одиниці. Так, на 4-ту добу він становив відповідно 1,28 та 1,27, а на 21-шу - 2,95 та 2,58 (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

**Співвідношення деяких морфометричних показників нейронів соматосенсорної кори головного мозку щурів із гострою церебральною ішемією у різні терміни на тлі лікувального введення адемолу (2 мг/кг) та цитиколіну (250 мг/кг), n=10**

Групи тварин	Індекс покращання виживаності нейронів	Індекс відносної активності мікроглії
4 доба		
ГПМК + адемол	1,26	2,78
ГПМК + цитиколін	1,11	2,09
21 доба		
ГПМК + адемол	1,28	2,95
ГПМК + цитиколін	1,27	2,58

Таким чином, результати проведених досліджень демонструють наявність у адемолу (2 мг/кг, в/о) виразних церебропротекторних властивостей в умовах ГПМК, викликаного необоротною білатеральною каротидною оклюзією. На нашу думку, в гострому періоді інсульту адемол завдяки модулювальному впливу на активність NMDA-рецепторів та покращанню перфузії головного мозку сприяє збереженню площі, щільності неушкоджених нейронів та вмісту в них НК. Це може відбуватись за рахунок наявності модулювального впливу адемолу на процеси некрозу та нейроаптозу у зоні ішемічної напівтіні.

Аналіз даних, які були отримані при дослідженні впливу адемолу на динаміку показника летальності щурів і гербел з модельним ГПМК, вказує на те, що адемол є активатором NMDA-рецепторно-іонофорного комплексу

пірамідних нейронів гіпокампа із швидкою блокадою/деблокадою NMDA-рецепторів.

Реалізація церебропротекторного ефекту адемола певним чином пов'язана з його спроможністю стимулювати кровопостачання головного мозку, що супроводжувалось нормалізацією основних показників гемодинаміки (АТ, ЦВТ та SaO<sub>2</sub>) і свідчить про сприятливий перебіг гострої церебральної ішемії та зменшення проявів цереброкардіальної дисфункції.

Спроможність адемола модулювати активність NMDA- рецепторів поряд із стимулювальним впливом на церебральну гемодинаміку в умовах модельного ГПМК сприяє зменшенню вогнища ішемії та зони пенумбри. Це знайшло підтвердження при дослідженні впливу курсової терапії адемолом на динаміку мікроморфометричних змін сомато-сенсорної кори головного мозку щурів з ГПМК. Адемола сприяє збереженню площі, щільності неушкоджених нейронів та вмісту в них НК. Отримані дані опосередковано свідчать про наявність модулювального впливу адемола на процеси некрозу та нейроаптозу в зоні ішемічної напівтіні.

Інтегральним показником, який дозволяє оцінити величину захисного впливу адемола на ішемізований головний мозок поряд із зменшенням показника летальності, є позитивна динаміка змін у неврологічному статусі тварин. Адемола значно зменшує неврологічний дефіцит у гострому та відновному періодах гострого порушення мозкового кровообігу та сприяє покращенню мнестичних функцій щурів, перевершуючи при цьому цитиколін.

Зважаючи на наявність у адемола потужних церебропротекторних властивостей, доцільним є з'ясування можливих біохімічних та клітинних механізмів його захисної дії на ішемізований головний мозок.

## РОЗДІЛ 4

### БІОХІМІЧНІ ТА КЛІТИННІ МЕХАНІЗМИ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ АДЕМОЛУ

*О.А. Ходаківський*

#### *4.1. Вплив адемолу на показники енергетичного метаболізму в ішемізованому головному мозку щурів.*

Відомо, що механізм реалізації складових захисного впливу нейропротекторного засобу може бути реалізований крізь призму його коригувальної дії на внутрішньоклітинний нейрональний метаболізм (А.Н.Барінов, 2012; И.Ф.Беленичев, С.В.Павлов, 2010; И.Ф.Беленичев и др., 2015). Повноцінний регрес енергодефіциту дозволяє не тільки зберегти цитоархітектоніку нейронів зони пенумбри, а є ще й основою для формування засад ендогенної цитопротекції. При ГПМК головний мозок зазнає значних коливань сталих показників гомеостазу як на клітинному, так і на тканинному рівнях. З огляду на це, важливо оцінити величину коригувальної дії адемолу на енергетичну складову нейронального метаболізму в ішемізованому головному мозку.

На моделі необоротної БКО у щурів нами встановлено, що наслідком ішемічного ушкодження стали коливання енергетичного балансу тканини мозку, а саме дисбаланс макроергічних фосфатів. Відмічено значне зниження вмісту АТФ – до 44% від початкового рівня ( $p < 0,05$ ). Вміст АМФ при цьому був вірогідно підвищений (у середньому на 250 %) адекватно зниженню АТФ, що віддзеркалює посилену утилізацію останнього при ішемічному ураженні нервової тканини. Курсове введення при ГПМК адемолу (2 мг/кг, в/о) подібно до цитиколіну (250 мг/кг, в/о) сприяло стабілізації енергетичного стану клітин мозку після церебральної ішемії, що підтверджувалось зростанням рівнів АТФ та АДФ на тлі зниження вмісту АМФ. Однак, кількісні зміни АТФ більш чітко виявились у похідного адамантану. Так, адемомол вірогідно збільшував вміст у

головному мозку АТФ порівняно з групою тварин, які отримували референс-препарат у середньому на 12,3% (табл. 4.1).

Таблиця 4..1

**Показники енергетичного метаболізму та кислотно-лужної рівноваги в головному мозку щурів, лікованих окремо адемолом (2 мг/кг) та цитиколіном (250 мг/кг), на 4 добу інсульту (M±m; n=10)**

Показники (мкмоль/г тк)	Псевдооперо вані тварини + 0,9% розчин NaCl	ГПМК +0,9% NaCl (контрольна патологія)	ГПМК адемолом	ГПМК + цитиколін
АТФ	2,16±0,04	0,95±0,03* (-56,0%)	1,54± 0,04 <sup>*#^</sup> (-28,7%) [+62,1%]	1,35±0,02 <sup>*#</sup> (-37,5%) [+42,1%]
АДФ	0,431±0,004	0,20±0,01* (-54,5%)	0,35±0,02 <sup>*#</sup> (-18,6%) [+75,0%]	0,31±0,01 <sup>*#</sup> (-27,9%) [+55,0%]
АМФ	0,20±0,01	0,70±0,02* (+250,0%)	0,28±0,012 <sup>*#</sup> (+40,0%) [-50,0%]	0,29±0,01 <sup>*#</sup> (+45,0%) [-58,6%]
Лактат	2,41±0,04	14,96±0,16* (+520,7%)	4,70±0,06 <sup>*#^</sup> (+19,6%) [-68,6%]	6,73±0,013 <sup>*#</sup> (+214,6%) [-55,0%]
Малат	0,310±0,011	0,081±0,008* (-74,9%)	0,26±0,012 <sup>*#^</sup> (-16,1%) [+225,0]	0,20±0,01 <sup>*#</sup> (-35,5%) [+150,0%]
Піруват	0,411±0,013	0,102±0,005* (-75,6%)	0,34±0,01 <sup>*#^</sup> (-17,1%) [+240,0%]	0,231±0,008 <sup>*#</sup> (-44,0%) [+160,0%]

Примітки:

- 1.ГПМК – гостре порушення мозкового кровообігу;
- 2.\* - p<0,05 відносно псевдооперованих тварин;

- 3.# -  $p < 0,05$  відносно групи контрольної патології;
- 4.^ -  $p < 0,05$  відносно цитиколіну;
5. У круглих дужках – відсотки змін відповідного показника відносно його рівня в псевдооперованих тварин;
6. У квадратних дужках – динаміка відносно показника групи контрольної патології.

На думку багатьох авторів (В.А.Яворская и др.,2011; S.N.Weisetal, 2011; G.Solaini et al., 2010; I.F.Belenichev et al., 2012.) на стадії енергетичних порушень зниження вмісту АТФ в ішемізованій тканині головного мозку компенсаторно активує анаеробний шлях обміну глюкози (гліколіз) і посилює утворення лактату та іонів водню, що обумовлює розвиток метаболічного ацидозу.

Нами встановлено, що ГПМК супроводжувалось розвитком декомпенсованого лактат-ацидозу – в гострому постішемічному періоді в головному мозку контрольних тварин відмічено вірогідне підвищення рівня лактату у 6,2 рази на тлі зниження пірувату та малату практично у 4 рази (табл.4.1).

Адемол та цитиколін викликали вірогідне зниження на тлі БКО вмісту лактату в середньому відповідно на 68,6% та 55% порівняно з контролем. При цьому на 4 добу спостереження рівень пірувату підвищився відносно контролю на 240% та 160%, а вміст малату – відповідно на 225% та 150% ( $p < 0,05$ ). Останнє, на нашу думку, може свідчити про збільшення синтезу АТФ за рахунок аеробного та анаеробного шляхів окиснення. При загальній позитивній спрямованості коригувальної дії обох досліджуваних речовин на маркери ацидозу в нервовій тканині, за спроможністю зменшувати вміст лактату похідне адамантану вірогідно перевершувало референс-препарат у 1,4 рази, а концентрація малату та пірувату по відношенню до такої на тлі цитиколіну збільшилась у середньому відповідно на 23,1% та 32,4% ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, адемол у гострому періоді ГПМК, порівняно із цитиколіном, чинив більш виразну дію на процеси аеробного та анаеробного

окиснення вуглеводів і, як наслідок, ефективніше підвищував енергетичний фонд нейронів.

Оцінюючи отримані результати, слід зазначити, що лікувальне курсове введення щурам із ГПМК адемолу сприяло відновленню порушених енергетичних процесів та усувало метаболічний ацидоз на рівні цитиколіну або краще за нього, що є однією з ланок механізму церебропротекторної дії досліджуваної сполуки в даних умовах. За ефективністю адемомол у дозі 2 мг/кг перевершує відомий церебропротектор цитиколін (250 мг/кг), що свідчить про більш високу церебропротекторну активність похідного адамантану.

#### **4.2. Стан кислотно-лужної рівноваги на тлі дії адемолу.**

На думку провідних патофізіологів та фармакологів (У.К.Каюмов, 2009; З.А.Катаева и др., 2009; X.Wang, E.K.Michaelis,2010), засади первинної нейропротекторної програми в умовах ГПМК можуть бути реалізовані шляхом деескалації процесів, що індукують розвиток змішаного ацидозу. Окрім безпосередньої оклюзії церебральної судини, у формуванні нейроацидотичних явищ беруть участь також розлади мікроциркуляції, які пов'язані із порушеннями в діяльності кардіореспіраторної системи. Модульовані якості сучасного нейроцитопротектору на формування ацидозу є бажаним ефектом, та можуть бути провідними у реалізації його захисної дії на ішемізований мозок (А.Н.Кондратьев, 2009; О.П.Мошенська, 2011). Типовим представником подібних метаболітотропних препаратів із добре вираженою антиацидотичною компонентою є похідне янтарної кислоти – мексидол, який вже впродовж тривалого часу використовується в нейрореаніматологічній практиці (Е.Б.Лутошкина и др., 2009; Г.В.Цаканова и др., 2010; В.В.Шведський та ін.,2011)

Разом із визначенням показників енергетичного обміну в тканині головного мозку нами проведено дослідження основних показників КЛР венозної крові сагітального синусу монгольських піщанок (гербел) на 1-шу та

4-ту добу після однічної оклюзії внутрішньої СА. Із представленою у табл. 4.2 даних видно, що у групі контрольної патології через 1 добу після моделювання ГПМК мало місце явище декомпенсованого змішаного ацидозу (метаболичного та дихального). Так, у цей термін у гербел із ГПМК, яким вводили лише 0,9% розчин NaCl, показник рН венозної крові сагітального синуса становив у середньому  $6,870 \pm 0,04$ , що на 0,350 менше, ніж у псевдооперованих тварин. Відомим є той факт, що рН крові має досить постійне, константне значення і зміни концентрації водневих іонів лише на 0,4-0,5 одиниці, особливо у нервовій тканині, де внутрішньонейрональний гомеостаз тісно пов'язаний із сталістю КЛР може призвести до деструктивних змін в мозку (А.С.Fihlo et al., 2010; U.Dimage et al., 2009; К.Niizuma et al., 2009). Подібне, за спрямованістю та величиною зменшення показника рН крові, що відтікає з ішемізованого головного мозку групи тварин контрольної патології, вказує саме на розвиток ацидозу (див. табл. 4.2).

Таблиця 4.2

**Динаміка показників кислотно-лужної рівноваги у венозній крові сагітального синуса гербел із гострою церебральною ішемією на тлі терапії адемолом (2 мг/кг) та мексидолом (100 мг/кг) ( $M \pm m, n=10$ )**

Показники	Псевдооперовані тварини + 0,9% NaCl (фоновий рівень)	ГПМК+0,9%NaCl (контрольна патологія)	ГПМК +адемолом	ГПМК + мексидол
<b>1 доба</b>				
<b>рН</b>	7,220±0,03	6,870±0,04*	7,203±0,03 <sup>#</sup>	7,180±0,02 <sup>#</sup>
<b>рСО<sub>2</sub>, мм.рт.ст.</b>	75,2±2,3	90,02±3,8* (+19,7%)	80,51±4,1 <sup>#</sup> (+7,1%) [-10,6%]	84,4±3,1 <sup>#</sup> (+12,2%) [-6,4%]
<b>АВ, ммоль/л</b>	25,03±3,1	12,73±1,9* (-49,1%)	20,51±2,2 <sup>#</sup> (-18,1%)	18,03±3,2 <sup>#</sup> (-27,96%)



			[+61,1%]	[+41,6%]
<b>SB,</b> <b>ммоль/к</b>	26,92±2,4	12,27±3,6* (-54,4%)	20,21±3,4 <sup>#</sup> (-24,9%) [+64,7%]	17,29±2,1 <sup>*#</sup> (-35,8%) [+40,9%]
<b>BB,</b> <b>ммоль/л</b>	54,85±5,31	31,79±3,2* (-42,0%)	44,25± 3,64 <sup>#</sup> (-19,3%) [-19,3%]	39,11±4,1 <sup>*#</sup> (-28,7%) [+23,0%]
<b>BE,</b> <b>ммоль/л</b>	1,77±0,06	-4,02±0,06* (-327,0%)	0,23±0,02 <sup>*#</sup> (-87,0%)	- 0,57±0,05 <sup>*#</sup> (-132,2%)
<b>4 доба</b>				
<b>pH</b>	7,218±0,02	6,980 ±0,03*	7,214± 0,02 <sup>#</sup>	7,183± 0,03 <sup>#</sup>
<b>pCO<sub>2</sub>,</b> <b>мм.рт.ст.</b>	74,1±1,8	86,2±4,3* (+16,3%)	75,88±3,1 <sup>#</sup> (+2,4%) [-12,0%]	78,31±2,8 <sup>#</sup> (+5,7%) [-9,2%]
<b>AB,</b> <b>ммоль/л</b>	24,32±2,2	13,4±2,3* (-44,9%)	23,30±2,7 <sup>#</sup> (-4,2%) [+73,9%]	19,90±2,1 <sup>#</sup> (-20,5%) [+48,5%]
<b>SB,</b> <b>ммоль/л</b>	26,31±1=2,7	13,10±3,1* (-51,3%)	23,89±2,4 <sup>#</sup> (-9,2%) [+82,4%]	18,88±1,8 <sup>*#</sup> (-28,1%) [+44,1%]
<b>BB,</b> <b>ммоль/л</b>	53,82±4,25	35,33±2,9* (-34,4%)	47,42± 4,21 <sup>#</sup> (-11,9%) [+34,2%]	43,70±3,7 <sup>#</sup> (-18,8%) [+23,7%]
<b>BE,</b> <b>ммоль/л</b>	1,79±0,08	-3,33±0,05* (-286,0%)	1,68±0,03 <sup>#°</sup> (-6,1%)	- 0,36±0,07 <sup>*#</sup> (-120,1%)

Примітки:

1. ГПМК – гостре порушення мозкового кровообігу;

2. pCO<sub>2</sub> – парціальний тиск CO<sub>2</sub>;

3. AB – істинний бікарбонат; SB – стандартний бікарбонат; BB – сума основ буферних систем; BE – дефіцит буферних основ;

4. \* – p<0,05 відносно псевдооперованих тварин;

5. # -  $p < 0,05$  відносно групи контрольної патології;
6. ° -  $p < 0,05$  відносно відповідного показника 1-ї доби;
7. У круглих дужках – зміни відповідного показника відносно його рівня в псевдооперованих тварин;
8. У квадратних дужках – зміни відносно показника групи контрольної патології.

Про факт наявної метаболічної складової у розвитку ацидозу в умовах модельної БКО вказувало достовірне по відношенню до псевдооперованих тварин зменшення концентрації буферних основ наприкінці першої доби ГПМК, а саме АВ, SB, ВВ та ВЕ у середньому відповідно на 49,1%, 54,4%, 42,0% та 227,0% (табл. 4.2).

Співпадіння за напрямком змін показників рН та ВЕ (обидва зміщені у кислий бік) може бути ознакою, що порушення КЛР мають метаболічний характер. Поряд із цим у групі контрольної патології мало місце підвищення рівня  $pCO_2$  у середньому на 19,7% ( $p < 0,05$ ), що може свідчити про дестабілізацію функціонування кардіореспіраторної системи, внаслідок порушення функції зовнішнього дихання. Подібна за спрямованістю, однак, дещо менша за інтенсивністю динаміка основних показників КЛР у тварин групи контрольної патології спостерігалась і на 4-ту добу після моделювання патології. Тенденція до поліпшення стану основних показників КЛР в кінці досліду у групі контрольної патології на тлі введення 0,9% розчину NaCl, а саме підвищення відносно першої доби рівнів АВ, SB та ВВ в середньому відповідно на 5,3%, 6,8% та 11,1%, було статистично недостовірним і, на нашу думку, пов'язане із початком розвитку адаптаційних процесів до ішемії та гіпоксії.

Лікувальне введення гербелам із ГПМК адемолу (2мг/кг, в/о), як і мексидолу (100 мг/кг, в/о), вірогідно перешкоджало розвитку ацидозу (табл. 4.2). Так, на тлі застосування цих речовин показники рН крові через 24 год

після моделювання патології становили у середньому відповідно  $7,203 \pm 0,03$  та  $7,180 \pm 0,02$ , тобто практично не відрізнялись від середнього значення у псевдооперованих тварин. Також відмічалась позитивна динаміка та нормалізація  $pCO_2$  і буферних основ, хоча за величиною корегувального впливу адемола та референс-препарат відрізнялись. Наприкінці першої доби ГПМК на тлі введення гербелам адемола показники вмісту буферних основ АВ, SB та ВВ у венозній крові сагітального синуса були вищими відносно контрольної патології відповідно на 61,1%, 64,7% та 39,2% і майже не відрізнялись від фонових, а значення  $pCO_2$  знизилось на 10,6% ( $p < 0,05$ ). Водночас адемола сприяв відновленню рівня ВЕ, який наприкінці дослідження залишався меншим за фоновий у середньому лише на 6,1% (табл. 4.2). Мексидол хоча і сприяв покращанню показників КЛР протягом першої доби, однак повної нормалізації не було досягнуто навіть упродовж чотириденної терапії: вміст буферних основ SB та ВЕ залишився вірогідно меншим відносно фонового в середньому на 28,1% та 120% відповідно, що вказувало на залишкові явища метаболічного ацидозу. Спроможність адемола відновлювати в ішемізованій півкулі головного мозку порушені показники КЛР, на нашу думку, може свідчити про нормалізацію метаболічних процесів в ішемізованій півкулі, причому за цією властивістю похідне адамантану перевершувало мексидол.

#### ***4.3. Вплив адемола на обмін монооксиду азоту в структурах ішемізованого головного мозку щурів.***

Останнім часом з'явилась значна кількість робіт, в яких переконливо доведена роль NO в патогенезі нейродеструктивних захворювань (І.Ф.Беленічев та ін., 2011; Ching Li-Chieh et al., 2012; A.Mahfoudh-Boussaid et al., 2012; K.K.Jain, 2012; N.Omer et al., 2012). Продукти метаболізму NO, такі як пероксинітрит ( $ONOO^-$ ), іон нітрозонію ( $NO^+$ ), нітроксил ( $NO^-$ ) та діазоттриоксид ( $N_2O_3$ ), являють собою основні фактори реалізації нітрозуючого стресу, результатом якого є пряма взаємодія NO з металами

(гемове залізо гемоглобіну, міоглобіну, залізовмісних ензимів, негемове залізо сірковмісних білків та ДНК, мідь та цинк активних центрів ферментів), а також непряма взаємодія  $\text{NO}^+$  ( $\text{S}^-$ ,  $\text{N}^-$ ,  $\text{O}$ -нітрозування) з тіольними, фенольними, гідроксильними та аміногрупами білків та ДНК (И.Ф.Беленичев и др., 2012; A.Winczuz et al., 2012). Подібні реакції призводять до десенситації рецепторів, пригнічення активності мітохондріальних ферментів та фрагментації нуклеїнових кислот. Суттєва роль у гіперпродукції  $\text{NO}$  належить індукцйбельній NOS, яка експресується під дією факторів транскрипції – JunB, c-fos, AP-1 (Г.В.Цаканова и др., 2010; S.Okada et al., 2008)

Одним із провідних механізмів захисної дії сучасного церебропротекторного засобу є його коригувальний вплив на обмін  $\text{NO}$ , зокрема на розвиток в тканинах головного мозку нітрозуючого стресу (М.А.Трешинская, 2012; R.S.Pandya et al., 2011; C.Temiz et al., 2007). Враховуючи ці дані, доцільним було дослідити модулювальний вплив адемолау на динаміку функціональних змін у системі монооксиду азоту в головному мозку щурів при експериментальній церебральній ішемії як одного із можливих механізмів його цитопротекторних ефектів.

У ході проведених досліджень нами встановлено, що БКО у щурів на 4 добу експерименту призводить до підвищення в головному мозку активності NOS та рівня стабільних метаболітів оксиду азоту відповідно у 2,3 та 2,7 рази ( $p < 0,05$ ) на тлі зниження вмісту L-аргініну (L-Arg) в середньому на 93,07 %, що може свідчити про гіперпродукцію  $\text{NO}$ . Курсова терапія щурів адемолом (2 мг/кг, в/о) та, меншою мірою, цитиколіном (250 мг/кг, в/о) у гострому періоді ГПМК чинило позитивний модулювальний вплив на цикл  $\text{NO}$  і сприяло нормалізації вмісту досліджуваних показників. Так, у зазначеному періоді експерименту ступінь активності в головному мозку щурів NOS та рівень  $\text{NO}$  на тлі введення похідного адамантану на 4-ту добу спостереження знизився відносно контрольної групи в середньому відповідно на 35,57% та 43,45% ( $p < 0,05$ ), вірогідно перевершуючи референс-препарат у 1,3 рази (табл. 4.3).

Опосередковано на зменшення продукції NO вказувало також підвищення в головному мозку тварин вмісту L-Arg. При цьому адемола вірогідно переважав цитиколін у 1,54 рази (див. табл. 4.3).

Таблиця 4..3

**Показники обміну NO в головному мозку щурів у гострому періоді ішемічного інсульту (4-та доба) на тлі лікувального внутрішньоочеревинного введення адемола (2 мг/кг) та цитиколіну (250 мг/кг) ( $M \pm m, n=10$ )**

Групи тварин	NOS, нмоль/г тканини/хв	Стабільні метаболіти NO, мкмоль/л	L-Arg, нмоль/г тканини
Інтактні тварини	8,38±0,91	17,89±0,51	6,93±0,24
ГПМК+0,9% NaCl (контрольна патологія)	42,85±1,64* (+133,13 %)	49,05±1,39* (+174,18 %)	0,48±0,02* (-93,07 %)
ГПМК+адемола	7,61±1,09*#^ (+50,22%) [-35,57 %]	27,74±0,62*#^ (+55,06%) [-43,4%]	3,43±0,25*#^ (-50,51%) [+614,58]
ГПМК+цитиколін	36,90±1,01*# (+100,76 %)	35,51±0,49*# (+98,49%) [-27,6 %]	2,22±0,11*# (-67,97%) [+362,7 %]

Примітки:

1. ГПМК – гостре порушення мозкового кровообігу; 2. NOS – NO – синтаза; L-Arg-L-аргінін;

3. Статистично значущі відмінності ( $p < 0,05$ ): \* - із показником інтактних тварин, # - із групою контрольної патології, ^ - з ефектом цитиколіну;

4. У круглих дужках – зміни (%) відносно показників інтактних тварин , у квадратних дужках – відносно показника групи контрольної патології.

Подібний коригувальний вплив досліджуваних речовин на активність NOS, вміст стабільних метаболітів монооксиду азоту та L-Arg в головному мозку щурів при даній патології спостерігався і у відновному періоді (табл.4.4). Причому як на 4 добу, так і наприкінці терміну спостереження, адемомол вірогідно переважав цитиколін за здатністю зменшувати активність NOS (у середньому на 14,6 %).

Таблиця 4.4

**Показники обміну NO в головному мозку щурів у відновлювальному періоді ішемічного інсульту (21-ша доба) на тлі лікувального внутрішньоочеревинного введення адемомолу (2 мг/кг) та цитиколіну (250 мг/кг) (M±m, n=10 )**

Групи тварин	NOS, нмоль/г тканини/хв	Стабільні метаболіти NO, мкмоль/л	L-Arg, нмоль/г тканини/хв
Інтактні тварини	18,38±0,91	17,89±0,51	6,93±0,24
ГПМК без лікування (контрольна патологія)	36,93±1,19* (+100,92 %)	41,25±0,60* (+130,58 %)	0,75±0,03* (-89,18%)
ГПМК + адемомол	25,03±1,14*#^ (+36,32 %) [-32,22 %]	19,06±0,45*#^ (+6,54 %) [-53,79 %]	4,79±0,19*#^ (-30,88 %) [+538,66 %]
ГПМК + цитиколін	29,30±1,27*#^ (+59,41 %) [-20,66 %]	18,94±0,41*#^ (+5,87 %) [-54,08 %]	4,88±0,05*#^ (-29,58 %) [+550,66 %]

Примітки:

1. ГПМК – гостре порушення мозкового кровообігу; NOS – NO – синтаза; L-Arg - L-аргінін;
2. Статистично значимі відмінності ( $p < 0,05$ ): \* - із показником інтактних тварин, # - із групою контрольної патології, ^ - з ефектом цитиколіну;
3. У круглих дужках – зміни (%) відносно показників інтактних тварин, у квадратних – відносно показника групи контрольної патології.

Таким чином, гострий період інсульту характеризується дисбалансом у функціонуванні системи монооксиду азоту в тканинах головного мозку, що пов'язано із більш ніж двократною активацією NOS, що супроводжувалось зростанням рівня стабільних метаболітів NO відповідно в 2,7 рази та виснаженням запасів L-Arg у середньому на 93,07% ( $p < 0,05$ ). Аналогічні зміни спостерігались і у відновному періоді гострої церебральної ішемії. Адемол, (2 мг/кг, в/о) ліпше за референс-препарат цитиколін (250 мг/кг, в/о) сприяв відновленню в ішемізованому головному мозку щурів нормального функціонування циклу NO як у гострому, так і у відновному періоді інсульту. Коригувальний вплив досліджуваних речовин на метаболізм NO проявився у зменшенні активності NOS, вмісту стабільних метаболітів NO та збереженні пулу L-Arg. Подібний ефект адемола може бути одним із ключових механізмів його захисної дії на ішемізовані нейрони мозку.

#### ***4.4. Оксидантно-антиоксидантний баланс у головному мозку щурів із церебральною ішемією на тлі адемола.***

Однією з провідних ланок у патобіохімічному каскаді в умовах гострої церебральної ішемії, окрім глутаматної ексайтотоксичності, енергодефіциту та метаболічного ацидозу є формування оксидативного стресу, який відбувається на тлі пригнічення активності власних антиоксидантних ферментів (М.Ю.Мартинов и др., 2010; Г.В.Цаканова и др., 2010; K.Niizuma et al., 2009; P.D.Ray et.al., 2012). При ГПМК масивне наростання в нейронах швидкості

генерації АФК та інших радикалів індукує процеси ОМБ та ПОЛ, що призводить до порушення регулярної упаковки мембранного шару, утворення в ньому дефектних зон та подальшої смерті клітини (В.А.Яворская и др., 2010; T.T.Reed et al., 2011). Згідно засад церебропротективної терапії сучасний нейропротекторний засіб має володіти коригувальним впливом на розвиток оксидативного стресу в структурах головного мозку при ГПМК (А.Н.Баринов, 2012; У.К.Каюмов, 2009; Q. Ma et al., 2011). Тому доцільно з'ясувати вплив адемола, який виявив потужні церебропротекторні властивості, на стан ПОЛ, ОМБ та антиоксидантного захисту. Це необхідно для кращого розуміння механізму його захисного впливу на головний мозок.

Проведене дослідження показало, що модельна БКО супроводжувалась розвитком у тканинах головного мозку щурів оксидативного стресу (табл. 4.5). На користь цього вказувало вірогідне зростання у тварин групи контрольної патології (ГПМК+0,9 % розчин NaCl) відносно інтактних щурів вмісту ТК, ДК та МДА в середньому відповідно на 426,8 %, та 213,9 % та 307,3 %.

Таблиця 4.5

**Показники оксидантно-антиоксидантного балансу в головному мозку щурів із гострою церебральною ішемією (4-та доба), лікованих адемолом (2 мг/кг) або цитиколіном (250 мг/кг), (M±m, n=7)**

Показники	Псевдооперовані тварини +0,9% розчин NaCl (фоновий рівень)	ГПМК+0,9 % NaCl (контрольна патологія)	ГПМК+ адемола	ГПМК+ цитиколін
1	2	3	4	5
ДК (мкмоль/г тканини)	1,08±0,03	3,39±0,04 (+213,9%)	1,53±0,07*#^ (+41,7%) [-54,9%]	2,34±0,10*# (+116,7%) [-31,0%]
ТК, (мкмоль/г тканини)	0,41±0,01	2,16±0,05 (+426,8%)	0,68±0,05*# (+65,9%) [-68,5%]	0,75±0,02*# (+82,9%) [-65,3%]
МДА (мкмоль/г)	0,55±0,03	2,24±0,02 (+307,3%)	0,71±0,02*#^ (+29,1%)	1,05±0,04*# (+90,9%)



тканини)			[-68,3%]	[-53,1%]
АФГ, (у.о./г білка)	6,03±0,12	15,75±0,15 (+161,2%)	9,05±0,13 <sup>*#^</sup> (+50,1%) [-42,5%]	11,91±0,33 <sup>*#</sup> (+97,5%) [-24,4%]
КФГ, (у.о./ білка)	8,33±0,07	21,43±0,80 (+157,3%)	1,16±0,11 <sup>*#^</sup> (+34,0%) [-47,9%]	12,65±0,19 <sup>*#</sup> (+51,9%) [-41,0%]
СОД, (у.о./мг білка/хв)	259,39±3,2	86,15±2,45 (-66,8%)	217,2±4,86 <sup>*#^</sup> (-16,3%) [+152,2%]	185,03±3,8 <sup>*#</sup> (-28,7%) [+114,8%]
Каталаза, (мкат/мг білка/хв)	15,26±0,62	4,97±0,22 (-67,4%)	8,74±0,23 <sup>*#^</sup> (-42,7%) [+75,9%]	6,33±0,13 <sup>*#</sup> (-58,5%) [+27,4%]
ГПР, (мкмоль/мг білка/хв)	71,70±1,02	36,43±0,94 (-49,2%)	52,49±1,41 <sup>*#^</sup> (-26,8%) [+44,1%]	47,16±1,75 <sup>*#</sup> (-34,2%) [29,5%]

Примітки:

- \* -  $p < 0,05$  відносно групи псевдооперованих тварин;
- # -  $p < 0,05$  відносно групи контрольної патології;
- ^ -  $p < 0,05$  відносно ефекту цитиколіну;
- У круглих дужках – зміни (%) відповідного показника відносно його рівня в інтактних тварин;
- В квадратних дужках – зміни (%) відносно показника в групі контролю.

Інтенсифікація вільнорадикального окиснення відбувалась поряд із активацією ОМБ – вміст АФГ та КФГ у гомогенаті мозку тварин групи контрольної патології на 4-ту добу спостереження вірогідно підвищився відносно аналогічних показників інтактних шурів у середньому в 2,6 рази (табл. 4.5).

Реалізація процесів оксидативного стресу відбувалась на тлі суттєвого зниження активності антиоксидантних ферментів. Так, активність СОД,

каталази та ГПР у тканинах головного мозку щурів із ГПМК наприкінці гострого періоду інсульту вірогідно знизилась порівняно з показниками псевдооперованих тварин у середньому відповідно на 66,8%, 67,4% та 49,2 (табл. 4.5).

Курсове лікувальне (впродовж усього гострого періоду) введення щурам із ГПМК адемолау, як і цитиколіну, зменшувало активацію ПОЛ та ОМБ у тканинах головного мозку (табл. 4.5). Так, вміст ДК був нижчим відносно такого у групі щурів контрольної патології у середньому відповідно на 54,9% та 31,0%, ТК – на 68,5% та 65,3%, МДА – на 68,5% та 53,1%, АФГ – на 42,5% та 24,4% та КФГ – на 47,9% та 41,0% ( $p \leq 0,05$ ). Відзначено також позитивний вплив терапії досліджуваними речовинами на стан антиоксидантних ферментів – активність СОД, каталази та ГПР вірогідно перевищувала відповідні показники у контрольних тварин у середньому відповідно на 152,2% та 114,8%; 75,9% та 27,4%; 44,1% та 29,5%. При цьому за величиною антирадикальної активності (спроможністю зменшувати вміст ДК, МДА, АФГ та КФГ) та здатністю зберігати пул ферментів антиоксидантного захисту адемолау вірогідно перевершував референс-препарат.

Таким чином, результати проведеного дослідження свідчать, що адемолау володіє позитивним модулювальним впливом на оксидантно-антиоксидантний баланс в головному мозку щурів при гострій церебральній ішемії, що ймовірно є одним із механізмів його нейропротекторної дії .

#### ***4.5. Вплив адемолау на деструкцію мембран нейронів у монгольських піщанок на моделі гострого порушення мозкового кровообігу за активністю нейрон-специфічної енолази.***

Оскільки процеси ліпопероксидації та ОМБ перебігають переважно в мембранних структурах нейронів, що при різкому зниженні системи антиоксидантного захисту неминуче призводить до загибелі нейрону як структурної одиниці (О.П.Мошенська, 2011; М.Ю.Мартинов и др., 2010;

U.Dimagl et al., 2009), можна припустити, що здатність адемолу зменшувати прояви оксидативного стресу є підґрунтям до збереження мембранної цілісності нейронів. У попередніх дослідженнях нами було продемонстровано здатність адемолу зберігати цитоархітектоніку сомато-сенсорної кори головного мозку щурів, що проявилось у збереженні площі, щільності неушкоджених нейронів та вмісту в них НК і є ознакою мембранопротекторного ефекту. Зазначена властивість у досліджуваного похідного адамантану у гострому періоді церебральної ішемії знайшло підтвердження при вивченні динаміки активності маркера нейрональної деструкції нейроцитів – NSE, яка локалізується в нейроцитах та нейросекреторних клітинах (Е.В.Григорьев и др., 2010). При нейродеструкції, зокрема в умовах мозкового інсульту спостерігається підвищення активності цього ензиму в крові, за рахунок його потрапляння у кровоносне русло. Це дає змогу розглядати NSE у якості раннього маркера пошкодження мембранної цілісності нейронів при цереброваскулярній патології різного генезу. Згідно з даними літератури (А.К.Пискунов, 2010; Т.Г.Гришанова и др., 2011). Рівень NSE у сироватці крові пацієнтів із ГПМК корелює із об'ємом інфаркту головного мозку.

Нами встановлено, що у гербел в умовах односторонньої оклюзії загальної сонної артерії через добу після моделювання ГПМК активність досліджуваного фермента вірогідно підвищилась відносно фонового показника у 7,5 рази, а наприкінці спостереження – майже у 10 разів (табл. 4.6).

*Таблиця 4.6*

**Вплив курсового введення адемолу (2 мг/кг, в/о) та мексидолу (100 мг/кг, в/о) на ступінь нейродеструктивних змін у ішемізованому головному мозку гербел з ГПМК ( $M \pm m$ , n=7)**

Термін	Рівень активності NSE (нг/мл) в сироватці крові
--------	---

спостережен ня	Псевдооперава ні тварини + 0,9% розчин NaCl (фоновий рівень)	ГПМК+0,9% NaCl (контрольна патологія)	ГПМК+ адемола	ГПМК+ мексидол
1 доба	0,64±0,01	4,80±0,15#	1,27±0,02*#°	2,59±0,09*#
4 доба	0,67±0,01	6,49±0,09#	2,90±0,07*#°	4,90±0,12*#

Примітки:

1. NSE – нейрон-специфічна енолаза;
2. \* -  $p < 0,05$  відносно групи псевдооперованих тварин;
3. # -  $p < 0,05$  відносно групи контрольної патології;
4. ° -  $p < 0,05$  відносно ефекту мексидолу.

Лікувальне курсове введення тваринам з ГПМК адемола (2 мг/кг, в/о), подібно мексидолу (100 мг/кг, в/о), супроводжувалось менш інтенсивним зростанням активності NSE: через 24 години активність ферменту збільшилась відносно показника псевдооперованих тварин у 2,0 та 4,1 раз, а через 4 доби – у 4,3 та 7,3 рази відповідно ( $p < 0,05$ ). Така дія досліджуваних речовин може свідчити про наявність у них цитопротекторного ефекту. Причому, в умовах гострої церебральної ішемії за здатністю зменшувати активність досліджуваного маркера нейродеструкції як на першу, так і на четверту добу ГПМК, адемола (2 мг/кг, в/о) вірогідно переважав за ефективністю мексидол (100 мг/кг, в/о) у 1,7 рази.

Позитивна динаміка активності NSE на тлі курсового введення адемола та мексидолу, може вказувати на послаблення досліджуваними речовинами величини деструктивних змін в ішемізованому мозку, збереження структурної цілісності нейронів і, як наслідок, зменшення вогнища ішемії та зони пенумбри. Однак ці результати не дають відповіді стосовно механізму нейрональної деструкції (некроз чи апоптоз).

Згідно сучасних уявлень, при ГПМК безпосередньо в осередках ішемії внаслідок майже повного припинення утворення АТФ переважають процеси

некротичної загибелі нейронів, а в зоні ішемічної напівтіні пенумбри – порівняно менший енергодефіцит сприяє ініціації механізмів апоптозу (В.В.Шведський та ін., 2011; С.Charriaut et al., 2009; J.Chen et al., 2007; I.F.Belenichev et al., 2012). Апоптична загибель, при якій клітини утилізуються шляхом утворення апоптотичних тілець та їх подальшого фагоцитозу, є порівняно з некрозом більш бажаною. На відміну від апоптозу, некроз клітини супроводжується її вакуолізацією, набуханням, лізисом мембран, виходом клітинного вмісту в міжклітинний простір із посиленням синтезу прозапальних медіаторів та цитокінів, наростанням запального процесу; отже, некроз є більш грубим порушенням тканинних структур (Е.А.Кладова и др., 2011; Р.Waring et al., 2008). Одним із небагатьох шляхів відновлення їх морфофункціональної здатності є трансформація типу клітинної смерті, а саме переключення з некрозу на апоптоз із одночасною активацією антиапоптотичних факторів (И.Ф. Беленичев, Е.Л. Левицкий, С.В. Павлов, 2008; R.H.Knight, G.Melino, 2011).

Виходячи з наведених даних вивченню можливого модульовального впливу адемоу на співвідношення різних механізмів клітинної смерті в умовах ГПМК присвячено наступну серію дослідів.

#### ***4.6. Оцінка антиапоптотичної активності адемоу в умовах модельного ГПМК у щурів за критерієм експресії генів раннього реагування.***

При гістоімунохімічній оцінці динаміки експресії гену раннього реагування c-fos у сомато-сенсорній корі головного мозку щурів із ГПМК встановлено, що на 4-ту добу після БКО у нейронах вірогідно знижувався вміст білка c-fos. На користь цього вказує зменшення кількості c-fos-позитивних нейронів у корі головного мозку в умовах даної патології у середньому на 55,68%,  $p < 0,05$  (табл. 4.7).

*Таблиця 4.7*

**Динаміка кількості c-fos та bcl-2 позитивних нейронів в корі головного мозку щурів із гострою церебральною ішемією (шар IV-V) на тлі лікувального внутрішньоочеревинного введення адемолу (2 мг/кг) та цитиколіну (250 мг/кг) ( $M \pm m$ , n=10)**

Групи тварин	Кількість c-fos-позитивних нейронів (на 1 мм <sup>2</sup> )	Кількість bcl-2-позитивних нейронів (на 1 мм <sup>2</sup> )
Інтактні тварини	26,40±1,73	97,80±2,23
4 доба		
ГПМК+0,9% NaCl (контрольна патологія )	11,70±0,82* (-55,68%)	19,20±1,04* (-80,37%)
ГПМК+адемола	17,60±0,73*#^ (-33,34%) [+50,43%]	41,00±1,10*#^ (-58,08%) [+113,54%]
ГПМК+цитиколін	11,70±0,60* (-55,68%) [0%]	29,10±1,25*# (-70,25%) [+51,56%]
21 доба		
ГПМК+0,9% NaCl (контрольна патологія )	13,20±0,66* (-50,0%)	24,40±0,58* (-75,05%)
ГПМК+адемола	38,40±1,40*#° (+45,45%) [+190,90%]	53,20±1,25*#° (-45,60%)
ГПМК+цитиколін	39,30±1,31*#° (+48,86%) [+197,72%]	51,40±, 21*#° (-47,43%)

Примітки:

1. \*-  $p < 0,05$  відносно групи інтактних тварин;
2. # -  $p < 0,05$  відносно групи контрольної патології;
3. ^ -  $p < 0,05$  відносно ефекту цитиколіну;
4. ° -  $p < 0,05$  відносно 4-ї доби;

5. У круглих дужках – зміна (%) відносно показника інтактних тварин, у квадратних – відносно показника контрольної групи .

Таке інтенсивне (більше ніж удвічі) зниження експресії досліджуваного гену може, згідно з даними літератури (И.Ф. Беленичев и др., 2008), свідчити про переважання некротичного типу загибелі нейронів в осередку ішемії.

Щодо кількості bcl-2-позитивних нейронів у корі головного мозку щурів у гострому періоді ГПМК (4-та доба ішемії), відмічалось їх значне зниження відносно інтактних тварин (у середньому на 80,37%,  $p < 0,05$ ), що може свідчити про активацію процесів нейроапоптозу в зоні пенумбри (табл. 4.7). У відновному періоді церебральної ішемії (21-ша доба) за рахунок розвитку адаптаційних процесів у корі головного мозку щурів із ГПМК відмічалась слабка тенденція до підвищення активності експресії білка c-fos та вмісту в нейронах антиапоптотичного білка bcl-2. Отже, можна зробити висновок, що при необоротній оклюзії СА у вогнищі ішемії за рахунок майже повної відсутності синтезу АТФ переважають процеси некротичної загибелі нейронів, а в зоні пенумбри менший енергодефіцит сприяє ініціації нейроапоптозу.

Терапевтичне курсове введення щурам із ГПМК адемолу сприяло посиленню експресії гену c-fos вже на 4-ту добу після початку лікування. Так, кількість c-fos-позитивних нейронів сомато-сенсорної зони кори головного мозку, залишаючись нижчою порівняно з інтактними щурами в середньому на 33,34 % ( $p < 0,05$ ), вірогідно підвищилась відносно групи контрольної патології в середньому на 50,43%. Синхронно до таких змін в експресії досліджуваного гену в групі тварин, лікованих адемолом, відбувалося вірогідне відносно контрольної патології підвищення в нейронах зони пенумбри кількості bcl-2-позитивних нейронів в середньому на 113,54% (див. табл. 4.7). Такий ефект адемолу, може бути одним із провідних механізмів його церебропротекторної дії в умовах ГПМК. Подібний за своєю спрямованістю та характером

модулювальний вплив досліджуваного похідного адаманту на вміст в ішемізованих нейронах про- та антиапоптотичних білків змінює морфологічний вид їх загибелі, переключаючи некротичний тип клітинної смерті на більш «м'який» апоптотичний у зоні ішемії, при цьому, зменшуючи роль останнього в ділянці ішемічної напівтіні.

На відміну від лікувального введення адемолау, терапія щурів протягом перших 4 діб ГПМК цитиколіном не призвела до вірогідних змін експресії в нейронах кори головного мозку гену раннього реагування *c-fos* відносно групи, яка отримувала лише 0,9% розчин NaCl, що може свідчити (як і в контролі) про переважання в осередку вогнища ішемії процесів некротичної смерті нейронів (див. табл. 4.7).

Аналізуючи одночасні зміни кількості bcl-2-позитивних нейронів, видно, що курсове введення цитиколіну сприяє їх вірогідному збільшенню в гострому періоді порівняно з групою контрольної патології тварин у середньому лише на 51,56%, тобто за цим показником цитиколін поступався адемолау майже у 1,4 рази (див. табл. 4.7). Отже, впродовж перших 96 год ГПМК терапія щурів цитиколіном чинить помірну модулювальну дію на процеси нейроапоптозу переважно лише в зоні пенумбри, не змінюючи морфологічний тип загибелі нейронів безпосередньо у вогнищі ішемії.

Подальша терапія щурів з ГПМК адемолом, подібно до цитиколіну, призвела до гіперекспресії гену *c-fos* в сомато-сенсорній корі головного мозку у відновному періоді ГПМК (21-ша доба). Так, кількість *c-fos* позитивних нейронів підвищилась відносно інтактних тварин у середньому відповідно на 190,9% та 197,72% (див. табл. 4.7). При цьому кількість bcl-2-позитивних нейронів на тлі застосування адемолау достовірно не змінилась відносно 4-ої доби церебральної ішемії, а у випадку терапії референс-препаратом збільшилась порівняно із гострим періодом більше ніж удвічі ( $p < 0,05$ ).



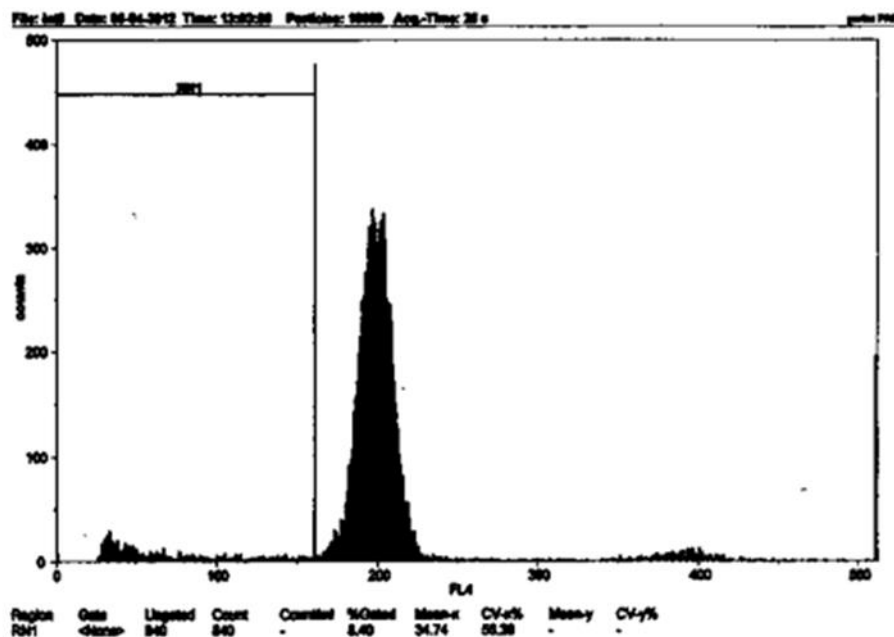
Отримані дані вказують на те, що курсова 21-денна терапія щурів адемолом може бути підґрунтям для збільшення кількості морфологічно незмінених нейронів в пенумбрі. По-перше, за рахунок гальмування розширення ділянки ішемії, шляхом залучення до неї ще морфофункціонально спроможних нейронів пенумбри, «переключаючи» некротичний тип смерті нервових клітин на більш сприятливий апоптотичний не тільки у гострому періоді, а й упродовж усього терміну спостереження. А по-друге, за рахунок стабільного протягом усього терміну спостереження (як у ранньому, так і у відновному періоді) збільшення синтезу антиапоптотичного білка bcl-2 переважно в зоні ішемічної напівтіні, гальмуючи таким чином процеси нейроапоптозу і, як наслідок, зменшення її площі. Модулювальний вплив цитиколіну виявився переважно у відновному періоді церебральної ішемії. Надмірна експресія гену c-fos у сомато-сенсорній корі головного мозку на 21 добу на тлі терапії щурів з ГПМК обома речовинами може сприяти більш швидкому та повноцінному відновленню порушених при розвитку ішемії процесів запам'ятовування, навчання, а також регресу неврологічного дефіциту, що було встановлено у попередніх дослідженнях (див. розділ 3.3).

Таким чином, отримані результати вказують на наявність у адемолу коригувального впливу на динаміку процесів нейрональної смерті в різні періоди ГПМК, що, ймовірно, є одним із провідних механізмів його цитопротекторної дії на ішемізовані нейрони.

#### ***4.7. Вплив адемолу на фрагментацію ДНК ядер нейронів за ішемії-реперфузії головного мозку.***

У ході попередніх досліджень нами встановлено, що адемомол стимулює кровопостачання головного мозку та послаблює деструктивні зміни, що дозволяє зменшити вторинне вогнище ішемії. Покращення церебрального кровообігу, окрім позитивної дії на перебіг формування зони пенумбри, може мати принаймі один негативний ефект – активувати процес нейроапоптозу, оскільки саме підтримання або відновлення кровопостачання ішемізованої

ділянки мозку (наприклад, після проведення тромболізу) є лімітуючим фактором для ініціації цього процесу (C.Charriaux-Marlangue et al., 2009).

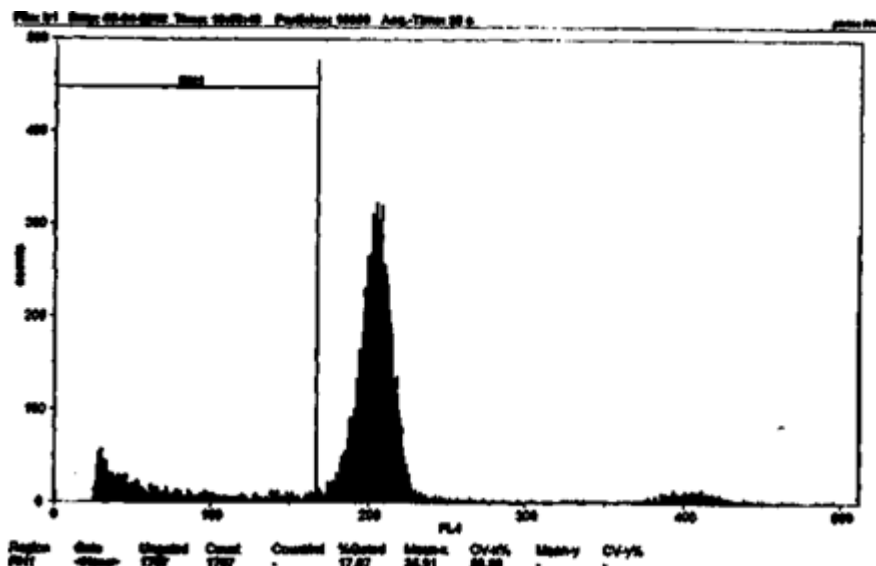


**(Sub-G1) – 8,40 %**

Рис. 4.1. Фрагментація ДНК в ядрах клітин кори головного мозку псевдооперованого щура через 72 год. Проточна цитометрія. Кількість подій 10000.

Одним із маркерів нейроаптозу є рівень фрагментованої ядерної ДНК (P.Waring et al., 2008). Зважаючи на це, доцільним було в умовах постреперфузійної церебральної ішемії на моделі ішемії-реперфузії (ІР) охарактеризувати вплив адемоу на нейроаптогенні зміни в корі головного мозку щурів методом протокової цитофлоуметрії, яка є загальновизнаним та одним із найкращих методів для оцінки фрагментації ДНК нейронів. Вибір моделі ІР пов'язаний з тим, що апоптоз може мати місце лише в тих ділянках головного мозку, які мають хоча б мінімальне кровопостачання. В умовах ішемії-реперфузії (клінічно ця модель відповідає постреперфузійному ураженню головного мозку після проведення тромболізу), ядерна зона як така буде майже відсутня, а основна маса нейронів буде гинути шляхом апоптозу (В.В.Шведський та ін., 2012; Е.Л.Ибрагімова, 2012).

Проведене дослідження показало, що у групі контрольної патології (ГПМК без лікування) інтенсивність фрагментації ДНК в ядрах нейронів лобних часток кори головного мозку через 72 год після моделювання церебральної 40-хвилинної ішемії-реперфузії вірогідно підвищилась в 2,3 рази (рис. 4.1 та 4.2, табл. 4.8).



(Sub-G1) – 17,07%

Рис. 4.2. Фрагментація ДНК в ядрах клітин кори головного мозку щура із моделлю церебральної ішемії з подальшою реперфузією через 72 год. Проточна цитометрія. Кількість подій 10000.

Таблиця 4.8

**Вплив адемоу та цитиколіну на фрагментацію ядерної ДНК нейронів щурів із церебральною реперфузією через 72 год (M±m, n=8)**

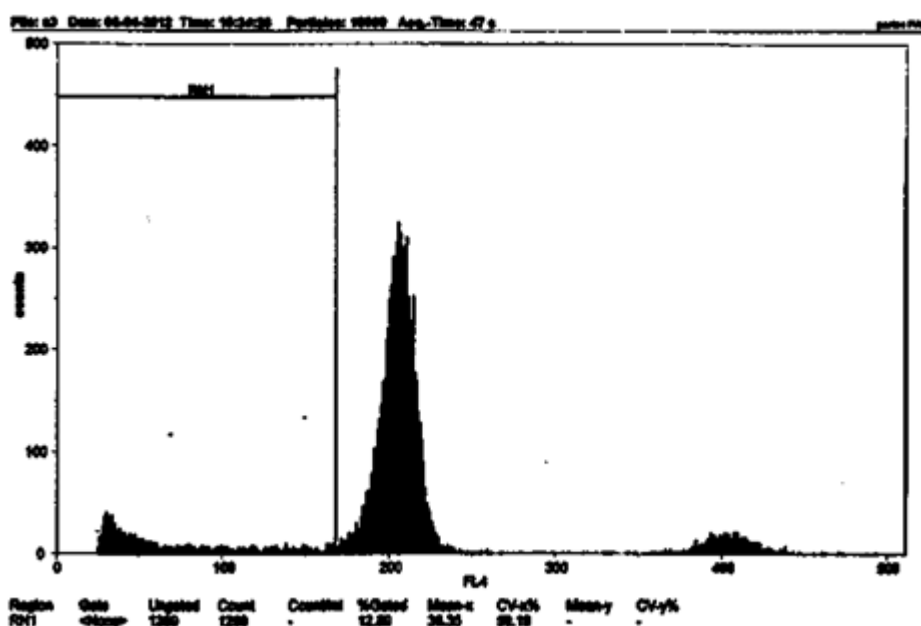
Умови дослідю	Фрагментація ДНК, %
Псевдооперовані тварини	7,44±0,80
ГПМК (контрольна патологія)	17,04±0,50*
ГПМК + адемоу (2 мг/кг)	12,01±0,56*#^

ГПМК + цитиколін (250 мг/кг)	14,05±0,71 <sup>*#</sup>
------------------------------	--------------------------

Примітки:

1. \* -  $p < 0,05$  відносно показника псевдооперованих щурів;
2. # -  $p < 0,05$  відносно показника контрольної патології;
3. ^ -  $p < 0,05$  відносно показника групи цитиколіну.

Це може вказувати на процес інтенсивного формування вогнища ішемічної напівтіні (пенумбри) саме за рахунок нейроцитів, які перебувають у стані апоптотичної смерті. Лікувальне курсове введення адемоу, як і цитиколіну, щурам із ГПМК чинило подібний за спрямованістю та силою церебропротекторний ефект, на що вказувало достовірне відносно контролю зменшення фрагментації ДНК в ядрах нейронів любних часток кори головного мозку в досліджуваному періоді в середньому відповідно на 29,5% та 17,6% (табл. 4.8; рис. 4.3 та 4.4).



**(Sub-G1)-12,89%**

Рис. 4.3. Фрагментація ДНК в ядрах клітин головного мозку щура з моделлю гострого порушення мозкового кровообігу, якому проводилась курсова терапія адемолом (2 мг/кг), через 72 год. Проточна цитометрія. Кількість подій 10000.

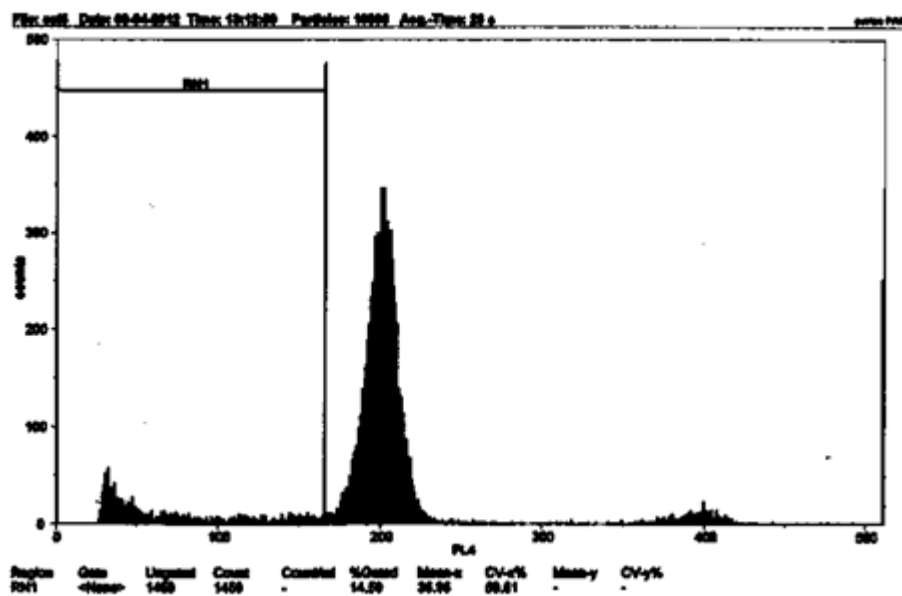
**(Sub-G1) – 14,59%**

Рис. 4.4. Фрагментація ДНК в ядрах клітин кори головного мозку щура з моделлю гострого порушення мозкового кровообігу, якому проводилась курсова терапія цитиколіном (250 мг/кг), через 72 год. Проточна цитометрія. Кількість подій 10000.

Таким чином, пригнічення інтенсивності нейроаптозу в корі головного мозку щурів під дією адемолу, як і цитиколіну, свідчить про зменшення вогнища ішемічної напівтіні за рахунок збереження числа морфологічно непошкоджених нейроцитів і є одним із провідних механізмів церебропротекторної дії обох засобів при постреперфузійних пошкодженнях головного мозку.

Отже, результати проведених досліджень демонструють наявність у адемолу (2 мг/кг, в/о) виразних церебропротекторних властивостей як в умовах модельного ГПМК, викликаного необоротною БКО, так і у випадку ІР. Провідними механізмами, які лежать в основі захисної дії адемолу на ішемізований головний мозок, є спроможність попереджати розвиток змішаного ацидозу, енергодефіциту, оксидативного та нітрузуючого стресів, що гальмує ініціацію процесів нейродеструкції. Про збереження цитоархітектоніки структур головного мозку, окрім морфометричних показників, переконливо свідчить зменшення активності маркера порушення мембранної цілісності нейроцитів – NSE зони пенумбри. Імуногістохімічна оцінка експресії генів *c-fos* та *bcl-2*, які беруть участь у реалізації нейроапоптозу, вказує на те, що в гострому періоді інсульту завдяки модулювальному впливу адемолу відбувається трансформація морфологічного виду їх загибелі – переключення некротичного типу клітинної смерті на більш «м'який» апоптотичний. Синхронно до таких змін у зоні ішемії, у пенумбрі та в зонах із відновленим кровообігом, за рахунок підвищення експресії антиапоптотичного білка *bcl-2* відбувається гальмування апоптозу, що дозволяє зберегти площу, щільність неушкоджених нейронів та вміст в них НК. Антиапоптотична дія адемолу виявилась і на моделі ІР, що свідчить про перспективність його застосування в якості церебропротекторного засібу для терапії постреперфузійних уражень головного мозку.

Здатність адемолу до часткової блокади NMDA-рецепторів та враховуючи виявлені механізми його захисної дії на ішемізовані нейрони головного мозку дозволяють віднести цей засіб як до первинних, так і до вторинних церебропротекторів, що є перспективним для розробки на основі адемолу нового вітчизняного церебропротектора, який можливо ефективно використовувати у будь-якому періоді ГПМК.

На сьогодні тромболітична та реваскуляризаційна терапія є одним із провідних напрямків терапії ішемічного інсульту. Однією з причин

недостатнього впровадження цих методів є вузьке терапевтичне вікно, і, як наслідок, небезпека розвитку тяжких постреперфузійних ускладнень. Одним із шляхів подолання цього є поєднання цитопротекторної терапії із тромболітичною (Т.Г.Сазонтова, Ю.В.Архипенко, 2007).

## РОЗДІЛ 5

### ЕФЕКТИВНІСТЬ АДЕМОЛУ У ПОСТРЕПЕРФУЗІЙНИЙ ПЕРІОД ТОТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ ОКА КРІЗЬ ПРИЗМУ ЗАСАД СУЧАСНОЇ НЕЙРОРЕТИНОПРОТЕКТИВНОЇ ТЕРАПІЇ

*І.Л.Черешнюк*

Грунтовний аналіз доступної нам літератури вказує на те, що чимало захворювань ока, зокрема таких як артеріальні або венозні оклюзії судин сітківки, глаукома (особливо гострий напад глаукоми), діабетична ретинопатія, і ретинопатії недоношених, ішемічні оптичні нейропатії та ін., асоціюються з ішемічно-реперфузійним ушкодженням сітківки та зорового нерва [С. О. Риков, В. А. Васюта, 2011]. Очевидно, що офтальмогіпертензивні стани з високим внутрішньоочним тиском, які розвиваються внаслідок травм або як ускладнення під час або після оперативних втручань, також можуть супроводжуватись ІР ушкодженням.

Наведені нозологічні одиниці є найбільш драматичними, оскільки їх фіналом є часткова або повна втрата зору. А враховуючи те, що розповсюдженість цих захворювань є дуже високою у багатьох країнах і, зокрема, в Україні, а достатньо ефективні фармакологічні засоби для корекції цих станів і досі відсутні – актуальність цієї проблеми лише зростає.

Теоретично на сьогоднішній день існує достатньо потенційних можливостей фармакологічного впливу на основні ланки ішемічного каскаду в нейронах сітківки. Однак, на жаль, переважна більшість рекомендованих лікарських препаратів виявляється ефективною лише *in vitro* та в умовах експерименту. Останніми роками поява на вітчизняному фармацевтичному ринку великої кількості нових метаболітотропних лікарських засобів із цитопротекторним впливом на нейрони (цитиколін, кортексин, корвітин, тіотриазолін, мексидол та ін. похідні янтарної кислоти) не знайшла очікуваного віддзеркалення у зменшенні показників захворюваності та інвалідизації хворих з нейроретинопатією, доводячи тим самим, що питання



створення еталонного ретинопротектора ще далеко від свого остаточного вирішення [Б.Н. Маньковский, Л.М. Литвинчук, Т.Н. Мищенко, 2014]. Зміни метаболізму нейронів в умовах гострої редукції кровообігу в головному мозку та сітківці ока схожі і відбуваються стадійно, що дозволяє розробити інтегровані підходи до терапії цереброваскулярної патології та ретинопатій різного генезу [N. N. Osborne et al., 2004]. Зокрема, глутаматна нейротоксичність, яка опосередкована надмірною активацією NMDA-рецепторів, і є ключовою ланкою у початку деструктивно-дегенеративних явищ при ішемічних ураженнях мозку та сітківки ока - являє собою потенційну мішень щодо можливих розробок напрямків патогенетичної терапії цих станів.

Іншим рецепторним комплексом, який безпосередньо бере участь у функціонуванні нейронів сітківки, регуляції мікроциркуляції в судинних структурах ока та формуванні внутрішньоочного тиску, є адренергічна система, зокрема її  $\beta$ -адренорецепторна складова.

Нижче охарактеризовані фізіологічні, патофізіологічні та біохімічні компоненти функціонування NMDA та  $\beta$ -адренорецепторів в сітківці ока [Н. Ю. Матвеева, 2012].

Основними збудливими нейромедіаторами сітківки людини є глутамат, аспартат та ацетилхолін. Збуджуючі амінокислоти функціонують головним чином у синапсах фоторецепторів та гангліозних клітинах. Ніжка колбочки і сфераула палички містять синаптичні стрічки, що направляють везикули з глутаматом до дендритів горизонтальних та біполярних клітин. Виділяють два основних класи рецепторів до глутамату: іоно- і метаботропні. Перші поділяють за їх чутливістю до агоністів  $\alpha$ -амінометил-ізоксазолпропіонової кислоти (AMPA), каїнату та N-метил-D-аспартату (NMDA).

Іонотропні рецептори містять ділянку, яка розпізнає аспартат або глутамат, іонний канал, що представляє собою білкову пору, вистелену зсередини гідрофільними групами та модуляторну субодиницю. AMPA та каїнатні рецептори беруть участь у швидкій передачі імпульсу і служать для

відкриття каналів, які прониклі для іонів натрію, і в деяких випадках - для іонів кальцію. Основою специфічності цих рецепторів є комбінування їх субодиниць. Існує чотири окремі субодиниці AMPA-рецепторів глутамата (GluR L-4) і п'ять типів субодиниць кайнатних рецепторів (GluR 5-7 і KA 1-2). Встановлено, що нейрони сітківки, в тому числі горизонтальні та гангліозні клітини, експресують одночасно багато субодиниць.

Третій тип іонотропного глутаматного рецептора - рецептори родини NMDA. Вони характеризуються проникністю для іонів кальцію та потенціювання гліцином. Канали NMDA-рецепторів складаються із двох субодиниць NR1 і NR2. Альтернативний сплайсинг призводить до існування великого числа підтипів кожної з цих субодиниць. NR2A - субодиниця виявлена в більшості гангліозних нейронів і тільки в одній популяції амакринних клітин.

Метаботропні рецептори глутамату асоційовані з G-білками пресинаптичної терміналі. Їх функція пов'язана з інгібуванням вивільнення медіатора. У даний час метаботропні рецептори виділені і охарактеризовані як mGluR4, mGluR6, mGluR7 і L-AP4.

$\beta$  -рецептори широко представлені в організмі людини у т.ч. і в тканинах ока: судинній стінці, корнеа-склеральній трабекулі, цилиарному тілі, епітелії кришталика та сітківці. Активація  $\beta$  -рецепторів цилиарного тіла (як  $\beta$  1, так і  $\beta$  2) адреналіном (стимулятор  $\beta$  -рецепторів) характеризується збільшенням секреції циклічного аденозинмонофосфату і, як наслідок, підвищенням секреції внутрішньоочної рідини. Відповідно до цього, блокада  $\beta$  -адренорецепторів призводить до зниження внутрішньоочного тиску за рахунок зменшення її продукції. Іншим не менш важливим механізмом, що веде до зниження внутрішньоочного тиску під дією  $\beta$  -адреноблокаторів, є покращення відтоку рідини та венозної крові завдяки підвищенню венотонусу внаслідок стимуляції 5-гідрокситриптамінових рецепторів (5-ГТ) венул ока [G. M. Leggio, F. Drago, S. Salomone et al., 2013].

Основний механізм загибелі нейронів при реперфузії сітківки та глаукомі - це апоптоз. Даний механізм відрізняється від некрозу тим, що припускає включення клітинної програми самознищення і не зачіпає оточуючих тканин. Основними причинами апоптозу вважають зниження нейротрофічного захисту нейронів, надмірний вплив на них збуджуючих нейротрансмітерів, таких, як глутамат, стероїдна нейротоксичність [И. А. Петрик и др., 2014] та гіперактивація адренергічної системи.

Надпорогове перезбудження NMDA-рецепторно-іонофорного комплексу призводить до шокowego відкриття  $Ca^{2+}$ -каналів та лавиноподібного внутрішньонейронального зростання концентрації кальцію, який бере участь у механізмах регуляції клітинного сигналітету на геномному рівні (індукція апоптозу). Ці реакції включають у себе надмірне утворення вільних радикалів, індукцибельної NO-синтази, активацію тумор-супресорного білка p53, який бере участь у регуляції експресії проапоптотичних генів раннього реагування сімейства c-fos та антиапоптотичних генів сімейства Bax і Bcl-2. Порушення рівноваги в експресії наведених генів призводить до утворення мітохондріальної пори і вивільнення з мітохондрій цитохрому c. Останній активує ланцюг ферментативних реакцій за участю специфічних ферментів - каспаз, які лізують клітину.

Таким чином, аналізуючи основні ланки патобіохімічного каскаду в нейронах сітківки при їх ішемічно-гіпоксичному ураженні різного генезу, можна виділити два напрямки реалізації нейроретинопротективної програми - модуляція фармакологічними агентами (препаратами) розвитку глутаматної ексайтотоксичності за рахунок блокади NMDA-рецепторів та покращення гідродинаміки внутрішньоочної рідини завдяки впливу на активність  $\beta$ -адренорецепторів. З метою зменшення поліпрагмазії бажаним та доречним було б поєднання цих властивостей в одному препараті. До подібного перспективного ретинопротектора теоретично можна віднести модулятор поліамінового сайту NMDA-рецепторів, 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид - адемол, якому притаманний широкий спектр

фармакологічних властивостей. Зокрема, наявність нейро-, кардіо- термо-актопротекторної, антигіпоксичної, протиішемічної, анксиолітичної, ноотропної, аналгетичної та адаптогенної дії, а також притаманні йому антихолінестеразні, гангліо- та  $\alpha$ -адреноблокувальні ефекти [Л.М. Зайцев та ін., 1999; М.О. Лозинський та ін., 2002; Ю.В. Короткий та ін., 2003; О.П. Лонська, 2008; В.А. Загорій, 2014; О.А. Ходаковский, Г.В. Загорий, 2014; О.А. Ходаківський, 2010-2014; О.А. Ходаківський та ін., 2010-2014; О.А. Ходаковский, 2013-2014; О.А. Ходаковский и др., 2013-2014], дають підстави сподіватись на можливе виявлення у адемолу захисної дії на сітківку ока в умовах її ішемічного ураження. У дослідженнях, проведених Г.В.Загорієм та О.А. Ходаківським [2014], вперше, з використанням єдиного

комплексного підходу у дослідях *in vivo* та *in vitro*, встановлено широкий спектр нейропротективної дії ампульного розчину адемолу ("Дарниця", Україна) на різних рівнях (від молекулярних і морфологічних змін в нейронах до формування поведінкових і неврологічних функцій). Доведено, що захисна дія адемолу не тільки зіставляється, а й подекуди переважає ефективність цитиколіну, пірацетаму, мексидолу, актовегіну, тіотриазоліну та корвітіну, на що вказує його спроможність в умовно ефективній дозі 2 мг/кг внутрішньоочеревинно при гострому порушенні мозкового кровотоку (ГПМК) зменшувати летальність, відстрочувати загибель тварин, покращувати їх неврологічний статус та мнестичні функції [Г.В. Загорій, 2014; О.А. Ходаковский, Г.В. Загорий, 2014; О.А. Ходаківський, 2010-2014; О.А. Ходаківський та ін., 2010-2014; О.А. Ходаковский, 2013-2014; О.А. Ходаковский и др., 2013-2014].

Комплексний механізм церебропротекторної дії адемолу пов'язано з модулюючим впливом на активність NMDA-рецепторів, стимуляцією кровопостачання головного мозку, усуненням енергодефіциту, метаболічного ацидозу, оксидантного ушкодження нейронів, коригувальним впливом на обмін монооксиду азоту, збереженням цитоархітекtonіки обох органів, у тому числі за рахунок зменшення апоптозу [Г.В. Загорій, 2014; В.А. Загорий, О.А.

Ходаковский, 2014; О.А. Ходаківський, 2010-2014; О.А. Ходаківський та ін., 2010-2014; О.А. Ходаковский, 2013-2014; О.А. Ходаковский и др., 2013-2014].

В умовах гострого порушення мозкового кровообігу та інфаркту міокарда адемоп чинить модувальний вплив на експресію в серці та головному мозку генів раннього реагування *c-fos* та *bcl-2*, що гальмує експансію зони тотальної ішемії, "переключаючи" некротичний тип смерті нейронів та кардіоміоцитів на більш сприятливий апоптотичний, що дозволяє зберегти цитоархітектоніку тканини. У постреперфузійному періоді гострої церебральної ішемії адемоп вірогідно краще за цитиколін зменшує інтенсивність фрагментації ДНК (маркеру нейроапоптозу) в ядрах кортикальних нейронів, що свідчить про антиапоптотичні властивості досліджуваної сполуки [О.А. Ходаківський, І.Л. Черешнюк, 2013; О.А. Ходаковский, С.В. Павлов, Н.В. Бухтиярова, 2013].

Результати досліджень останніх років показали, що первинною та провідною ланкою, функціонування якої забезпечує реалізацію усього комплексу нейроцитопротекторних механізмів адемопу, є його спроможність як модулятора поліамінового сайту NMDA-рецепторів перешкоджати глутаматній ексайтотоксичності без розвитку побічних ефектів, що притаманні повним блокаторам N-метил-D-аспартатного сайту [Г.В. Загорій, 2014; В.А. Загорій, О.А. Ходаковский, 2014; О.А. Ходаківський, 2010-2014; О.А. Ходаківський, та ін., 2010-2014; О.А. Ходаковский, 2013-2014; О.А. Ходаковский и др., 2013-2014].

Зважаючи на структурну подібність адемопу до неселективного  $\beta$ -адреноблокатора пропранололу (анаприлін) та наявність у нього  $\beta$ -адреноблокуючих властивостей, можна припустити, що адемоп, подібно до свого структурного аналога, має здатність знижувати підвищений внутрішньо очний тиск. Причому ця дія може реалізуватися не тільки за рахунок блокади  $\beta$ -адренорецепторів, а й внаслідок його активуючого впливу на функціонування 5-HT рецепторів. Останній рецепторний механізм (активація 5-HT-рецепторів) добре описаний у пропранололу. Важливим у реалізації

офтальмопротекторних властивостей адемолу може стати його модульовальний вплив на функціонування системи монооксиду азоту (дія на експресію NO-синтаз та вміст стабільних метаболітів монооксиду азоту) що, зокрема, проявилось при дослідженні механізмів його дії при ГПМК та інфаркті міокарда [О.А. Khodakovskiy, А. Y. Khodakovskiy, 2014]. Ця властивість наближає адемомол за механізмом ангіопротекторної дії до  $\beta$  - адреноблокаторів нової генерації, таких, як небіволол, і може суттєво послаблювати такі небажані ефекти як спазм артеріол, що притаманні аналоговим неселективним блокаторам (метопролол).

*Мета* - провести первинний скринінг ретинопротекторних властивостей адемолу в умовах модельної ішемії-реперфузії (ІР) ока за активністю нейрон-специфічної енолази.

#### **Матеріали та методи**

Оцінку ретинопротекторних властивостей 1,0 % розчину адемолу ("Дарниця", Україна) проведено на щурах-самцях лінії Вістар масою 160-180 г. Усі тварини знаходились у віварії ВНМУ ім. М.І. Пирогова на стандартному водно-харчовому раціоні при природному освітленні та вільному доступі до води та корму. Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувались методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ і вимог біоетики згідно до Національних "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (2001), що відповідають положенням "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" [Н.А. Ляпунов и др., 1999; F. Simone, J. Serratosa, 2005]. Дослідження проводили в лабораторії кафедри фармакології по доклінічному вивченню фармакологічних речовин та Науково-дослідній лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку ВНМУ ім.М.І. Пирогова. Дослідження ретинопротекторної активності адемолу та його ймовірних механізмів захисної дії на сітківку проводили в умовах експериментальної гострої ретинальної ішемії. Ретробульбарні лігатури затягували до зникнення кровотоку в судинах сітківки і фіксували зажимами. Через 60 хв. після ішемії,

лігатури обережно розпускали і знімали. Кровобіг в судинах сітківки швидко відновлювався самостійно.

Адемол вводили у лікувальному режимі внутрішньоочеревинно (в/о) дозою 2 мг/кг. Терапію розпочинали через 30 хв. після накладання ретробульбарної лігатури з наступним введенням через 12 год після реперфузії. Група контрольної патології (тварини з ІР) отримувала 0,9% розчин NaCl із розрахунку 2 мл/кг в/о. Псевдооперованих щурів піддавали всім втручанням (наркоз, офтальмоскопія, накладання лігатури за виключенням її затягування). Будь-які травматичні маніпуляції та евтаназію тварин шляхом декапітації виконували в умовах пропофолового наркозу (60 мг/кг, в/о) [О.А. Ходаківський, 2014] ("Fresenius Kabi", Австрія). Оцінку наявності та величини нейроретинопротекторних властивостей адемола в досліджуваній дозі проводили через добу після ІР за рівнем зростання активності нейрон-специфічної енолази (NSE), яка є маркером деструкції нейронів. Активність NSE у сироватці крові щурів вимірювали методом твердофазного імуоферментного аналізу з використанням наборів NSE ELISA KIT (DAI, США) на приладі фірми "Hipson" (Чехія) [О.А. Ходаковский и др., 2013].

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, парний критерій К Вілкоксона - для визначення змін у динаміці всередині групи. Відмінності вважали статистично значущими при  $p < 0,01$ .

### **Результати. Обговорення**

Як показали результати наших досліджень, у групі контрольної патології через добу після ішемії-реперфузії ока, активність NSE була вірогідно вищою за аналогічний показник у псевдооперованих щурів в середньому у 8,88 рази ( $p < 0,01$ ), що вказує на значну деструкцію нейронів сітківки в умовах даного патологічного стану (табл. 1).

Таблиця 5.1.

**Вплив внутрішньоочеревинного терапевтичного введення адемола (2 мг/кг) на активність нейрон-специфічної енолази у крові щурів через 24 год. після модельної ішемії-реперфузії ока ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )**

Дослідні групи	Рівень активності NSE (нг/мл)
Псевдооперовані щури	0,357± 0,022
IP + 0,9% р-н NaCl (контрольна патологія)	3,169±0,168*
IP + адемола	1,205±0,036*#

**Примітки:** NSE - нейрон-специфічна енолаза; \* -  $p < 0,01$  відносно показника псевдооперованих щурів; # -  $p < 0,01$  відносно показника контрольної патології.

Подібна гіперактивація NSE опосередковано вказує на той факт, що ішемія ока з наступною реперфузією супроводжується розвитком некротичних процесів у нейрональних шарах сітківки. Це призводить до порушення мембранної цілісності нейроцитів і виходу енолази за межі клітин, звідки вона потрапляє в судинне русло. Отримані дані підтверджують той факт, що у формуванні ішемічного вогнища в умовах ішемії-реперфузії беруть участь гетерогенні механізми нейрональної смерті.

Ділянки сітківки, в яких після реперфузії ока кровопостачання підтримується на рівні мінімально достатньому для ініціації та подальшому підтриманні енергозалежних апоптотичних програм, останній буде превалювати над нейронекрозом. Поряд з цим, у тих зонах де реперфузія не відбулась взагалі або є недостатньою - переважає нейронекроз. Аналогічний механізм формування ішемічного вогнища в постреканалізаційний період має місце у



головному мозку в умовах ішемічного інсульту як модельного (наприклад, при ішемії-реперфузії в басейні внутрішньої сонної артерії тварин), так і у клінічній практиці на тлі реканалізації інфаркт-залежної церебральної судини [В.В. Шведський, О.А. Ходаківський, 2012].

Терапевтичне застосування адемолу впродовж першої доби експерименту сприяло вірогідному ( $p < 0,01$ ) зниженню активності досліджуваного маркера в середньому у 2,63 разу відносно тварин контрольної патології.

Подібне зменшення активності NSE у щурів з ішемією-реперфузією ока на тлі лікувального введення адемолу в постреканалізаційний період свідчить про послаблення деструкції в нейрональних шарах сітківки та наявності у досліджуваного препарату нейроретинопротекторних властивостей при даній патології.

### **Висновки та перспективи подальш їх розробок**

Аналізуючи наведені дані огляду та власні результати скринінгових досліджень ефективності адемолу в умовах модельної ІР, а також зважаючи на притаманні адемолу ліп офільні властивості та його здатність вільно проникати через гематоенцефалічний та очевидно і через гематоофтальмологічний бар'єр, ми дійшли до висновку, що даний препарат є перспективним для вивчення його ретинопротекторних ефектів при ішемічному ураженні сітківки.

## РОЗДІЛ 6

### НООТРОПНІ ВЛАСТИВОСТІ АДЕМОЛУ

*Г.І. Степанюк, С.В.Сергєєв, Ю.В.Короткий, М.О.Лозінський*

Вплив науково-технічного прогресу на людину характеризується підвищенням вимог до витривалості нервової системи, і, як наслідок, можливістю виникнення астеноневротичних розладів. Сучасні нейротропні препарати, перш за все ноотропи, які використовуються в терапії цих порушень, не завжди задовольняють клініцистів, через недостатню ефективність та наявність побічних ефектів. Саме тому пошук нових, більш ефективних та безпечних, ноотропних засобів, здатних покращувати адаптаційні можливості ЦНС, становить актуальну проблему фармакології (Т.А. Воронина, С.Б. Середенин, 1998). Досить перспективними в цьому плані є похідні адамантану, яким притаманний широкий спектр дії на ЦНС (А.А.Спасов и др., 2000), що і стало підставою для проведення даного дослідження. Досліджено 46 похідних адамантану, синтезованих в Інституті органічної хімії НАН України.

Мета даного дослідження: в ряду нових похідних адамантану встановити наявність ноотропної активності, виявити сполуки-лідери, перспективні для поглибленого вивчення на предмет придатності для створення на їх основі нового лікарського засобу з вказаним ефектом.

**Матеріали та методи.** Скринінг нейротропної активності нових похідних адамантану з лабораторними шифрами ІОК-1 - ІОК-46 проведено на моделі умовного рефлексу пасивного уникання (УРПУ).

Ноотропну дію досліджуваних адамантанів у дозах 1,6-10% від їх ЛД<sub>50</sub> та референс-препарату пірацетаму (100 мг/кг) оцінювали за їх впливом на тривалість сумарного перебування щурів у темному відсіку установки через 24 год після вироблення УРПУ. Водорозчинні речовини та препарат порівняння

вводили щурам внутрішньоочеревинно, а ті, що не розчинялися у воді - внутрішньошлунково (на 2% крохмальному клейстері) на 2-й день після відтворення умовного рефлексу за 40 - 60 хв до розміщення тварин в установці. У сполук, що проявили найбільш виразну ноотропну активність у дослідах з УРПУ, досліджено вплив на умовний рефлекс активного уникання (УРАУ) Антиамнестичну дію досліджуваних сполук оцінювали за методом вироблення УРАУ (Я.Буреш и др., 1991). З цією метою використовували плексигласову камеру з електрифікованим дном та вмонтованою в нього дерев'яною жердиною. За безумовний подразник (БП) слугував електричний струм напругою 50 - 70 В, частотою 50 Гц та тривалістю імпульсу 5 мс, що подавався на електрифіковану зволожену підлогу камери за допомогою приладу ЕСЛ-1. Попередньо, у піддослідних тварин визначали поріг больової чутливості, який згодом збільшували вдвічі. За умовний подразник (УП) слугувало світло (лампа потужністю 100 Вт, підвішена над камерою), яке включалося за 5 с до БП. Обидва показники (УП та БП) виключали, щойно щур вибирався на жердину. Під час вироблення умовного рефлексу (УР) кожній тварині пропонували по 10 комбінацій умовного та безумовного подразників. Як параметри УР реєстрували відсоток позитивних відповідей на УП, а також латентний період (ЛП) - час з моменту включення світла до моменту уникання (вискакування на жердину).

УР вважався сформованим за наявності у щурів 5-ти послідовних відповідей на УП або у випадку 80-90% позитивних відповідей. З метою визначення впливу досліджуваних сполук на вже вироблений умовний рефлекс, водорозчинні речовини, як і еталонний препарат пірацетам (250 мг/кг) вводили одноразово в очеревину за 30 хв, нерозчинні у воді - внутрішньошлунково - за 60 хв до останнього випробування у дозах, що становили 1,6-10% від ЛД<sub>50</sub>. Отримані дані порівнювали з параметрами рефлексу до введення зазначених досліджуваних сполук. Цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента. Вірогідними вважали зміни показників при  $p < 0,05$ .

**Результати та обговорення.** У результаті проведених дослідів, на моделі УРПУ встановлено, що 23 похідних адамантану при одноразовому введенні в організм щурів чинять ноотропну дію, яка, подібно до пірацетаму, проявлялася скороченням терміну перебування тварин у темному відсіку установки (табл. 6.1).

Такі зміни даного показника на тлі дії досліджуваних похідних адамантану, як і референс-препарату, можуть бути результатом загострення слідових реакцій у пам'яті тварин на небезпеку (електричний стимул, який мав місце напередодні), що можна розцінити як прояв ноотропної дії. Найбільш виразне загострення мнестичних функцій ЦНС викликали сполуки з лабораторними шифрами ЮК-1, ЮК-4, ЮК-16, ЮК-20, ЮК-36, ЮК-39, ЮК-42 та ЮК-46: під їх дією термін перебування щурів у темному відсіку установки вірогідно скорочувався в середньому в 3-4 рази відносно контролю, проти 2 разів на тлі пірацетаму.

Найбільш ефективними виявилися сполуки з лабораторними шифрами ЮК-1 та ЮК-4, які вдвічі перевершували ефективність референс-препарату. При цьому вказані сполуки значно переважали пірацетам за ноотропною активністю, оскільки досліджувались у дозах у 50 та 27 разів відповідно менших від еталонного препарату.

*Таблиця 6.1*

**Вплив адамантанів та пірацетаму на умовний рефлекс пасивного уникання у щурів ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )**

Сполука	Доза, мг/кг	Сумарний час перебування у темній камері, с		Динаміка, %
		1-й день	2-й день	
Контроль	-	159,71 $\pm$ 7,6	115,0 $\pm$ 16,4*	-28
Пірацетам	250	156,9 $\pm$ 4,8	77,8 $\pm$ 18,7*	-50,4
ЮК-1	5,0	130,7 $\pm$ 9,9	25,3 $\pm$ 2,4*	-100,0

ЮК-4	9,2	144,3±10,4	19,3±7,7*	-86,6
------	-----	------------	-----------	-------

Примітка: \* -  $P < 0,05$  щодо контролю.

З метою подальшого дослідження ноотропних властивостей найбільш ефективних сполук, було використано модель умовного рефлексу активного уникання.

З даних, наведених у табл. 6.2, видно, що похідні адамантану з лабораторними шифрами ЮК-1 і ЮК-4, подібно до пірацетаму, полегшували формування у тварин умовного рефлексу активного уникання. На це вказувало вірогідне збільшення частоти відповідей на УП та зменшення часу латентного періоду, порівняно з вихідними показниками. При цьому сполука ЮК-1 за показником частоти позитивних відповідей на УП перевершувала пірацетам у 1,2 раза, а за показником латентного періоду відповідей на УП майже вдвічі.

Отримані дані можна трактувати як спроможність вказаних похідних адамантану покращувати когнітивно-мнестичні функції та динаміку нервових процесів у ЦНС. За цими властивостями ЮК-1 значно переважає пірацетам (100 мг/кг). Разом з цим, сполука ЮК-1 переважає пірацетам за ноотропною активністю, оскільки її ефективна доза у 20 разів менша від аналогічної дози референс-препарату.

Оцінюючи результати проведеного дослідження, можна зробити висновок, що похідним адамантану, в першу чергу сполукам з лабораторними шифрами ЮК-1 і ЮК-4 притаманна ноотропна активність. На це вказує їх спроможність, як і пірацетаму (100 мг/кг), посилювати слідові реакції в пам'яті щурів на небезпеку (досліди з УРПУ) та прискорювати формування у тварин умовного рефлексу активного уникання (УРАУ). В цьому плані найбільш ефективною є ЮК-1 в дозі 5 мг/кг, яка за величиною впливу на УРПУ вдвічі перевершувала еталонний ноотроп та не поступалися останньому в спроможності прискорювати формування УРАУ. При цьому похідне адамантану ЮК-1 помітно перевершує пірацетам за ноотропною активністю,

оскільки його ефективна доза в 20-50 разів менша від доз еталонного ноотропа.

Таблиця 6.2

**Вплив похідних адамантану та пірацетаму на вироблення рефлексу  
активного уникання у щурів ( $M \pm \sigma$ ,  $n=7$ )**

Назва сполук, доза	Частота відповідей на умовний подразник, %			Латентний період відповідей на умовний подразник, с		
	до введення	після введення	динаміка	до введення сполук	після введення	динаміка, %
Пірацетам (250 мг/кг)	64,4±5,1	87,7±7,2*	+23,3	3,1±0,3	2,4±0,4	- 22,5
ЮК-1 (5,0 мг/кг)	58,2±3,9	86,2±5,8*	+28,0	3,2±0,2	1,8±0,3*	- 43,8
ЮК-4 (9,2 мг/кг)	65,4±5,2	91,9±7,2*	+26,5	3,4±0,3	2,6±0,2	- 23,5

Примітка: \*- $P < 0,05$  щодо контролю.

Отримані дані вказують на перспективність поглибленого дослідження ноотропних властивостей похідних адамантану з лабораторними шифрами ЮК-1 (1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид) та, ЮК-4 (1-адамантилетилокси-3-диетиламіно-2-пропанолу гідрохлорид) на предмет створення нового ноотропного засобу, конкурентоспроможного з пірацетамом. На доцільність такого дослідження вказує також те, що ноотропна дія у досліджуваних адамантанів поєднується з наявністю у них актопротекторної активності, за величиною якої вони не поступаються бемітилу (О.П.Драчук та співавт., 2004).

## РОЗДІЛ 7

### ХАРАКТЕРИСТИКА АКТОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АДЕМОЛУ В УСКЛАДНЕНИХ УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТУ

*О.П.Драчук, Г.І.Степанюк*

Глосарій сучасного фармаколога в останні десятиліття збагатився відносно новою групою препаратів – актопротекторами. Це група засобів, які запобігають розвитку втоми і покращують працездатність в звичайних та екстремальних умовах (гіпоксія, високі і низькі температури, гіподинамія тощо) (Oh. Seikwan, S. Oliynyk 2015; Э.С. Питкевич и др., 2001, Ю.Г.Бобков, 1984). Актуальність розвитку та вивчення даної групи лікарських засобів обумовлена зростаючою кількістю в Україні та світі природних та техногенних надзвичайних ситуацій з виникненням різноманітних факторів, які негативно впливають на організм (Т.О. Дев'яткіна, О.М. Важнича, 2006), що призводить до зниження фізичної працездатності, утруднює виконання поставлених завдань та нерідко створює небезпеку для життя людини (Н.Н. Самойлов, 2002; Е.Н. Стратиенко, 2003).

Арсенал групи актопротекторів обмежений практично одним бемітилом (торгова назва російського аналога «Метапрот», який в Україні як лікарський препарат не зареєстрований). Окрім стимулюючої дії на фізичну та розумову працездатність, бемітилу притаманні також імуностимулюючий, протигіпоксичний, антиоксидантний та нейротрофічний ефекти (Э.С. Питкевич и др., 2001, С.А. Олейник и др, 2010). Водночас препарат проявляє побічні ефекти ( головний біль, гастралгії, диспепсії, психоактивуюча дія, порушення сну), що перешкоджає його широкому застосуванню (М.Д. Машковский, 2012; S. Oliynyk, 2012).

Враховуючи наведені дані та відсутність на вітчизняному фармринку офіційних лікарських засобів з актопротекторною дією, сьогодні ведеться активний пошук та вивчення нових хімічних сполук з актопротекторною

активністю, придатних для створення на їх основі більш ефективного та безпечного препарату з вказаною дією (В.Д. Лук'янчук, 2015).

В цьому плані перспективним представляються похідні адамантану, оскільки здатність підвищувати фізичну витривалість була доведена у представника вказаного класу хімічних речовин - бромантану (Н.Н. Самойлов, 2002; Р.Д. Сейфулла, 1998), який не отримав широкого застосування через надлишок психоактивуючої дії. Нашу увагу привернуло інше похідне адамантанів - 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанол гідрохлорид (адемом), який в скринінгових дослідженнях актопротекторної дії виявився найбільш активним та ефективним (О.П. Лонська, 2008).

#### Матеріали та методи

Вплив адемолау, в порівнянні з бемітилом, на фізичну витривалість тварин в ускладнених умовах вивчали на фоні гострої гемічної гіпоксії ( $\text{NaNO}_2$  підшкірно), ішемії мозку (однобічна перев'язка загальної сонної артерії), (Ю.Г. Бобков и др., 1984; Л.Т. Киричек, 1989; В.Д. Лук'янчук та ін., 2002). Похідне адамантану, як і референс-препарат, вводили одноразово в/о за 40-50 хв до моделювання екстремального стану або щоденно протягом 15 діб на тлі ішемії мозку в дозах, що становили їх  $\text{ED}_{50}$  за актопротекторною активністю в умовах плавальної проби (О.П. Лонська, 2008). Величину актопротекторної дії в ускладнених умовах експерименту оцінювали за тривалістю плавального тесту, бігу у третбані та статичної витривалості (час утримання на стрижні, що обертається) (В.В. Гацура, 1974; Ю.Г. Бобков и др., 1984).

Протигіпоксичні властивості, як можливу складову актопротекторної дії, досліджуваних речовин вивчали на 2-х моделях гіпоксії: гострої асфіксії та гострого порушення мозкового кровотоку (ГПМК) у наркотизованих (тіопентал натрію 70 мг/кг в/о) щурів (В.Д. Лук'янчук та ін., 2002). При цьому адемом, як і бемітил, вводили одноразово в/о за 50-60 хв до повного перетискання трахеї в оптимальних терапевтичних дозах за плавальною



пробою або за 40-50 хв до двобічної перев'язки сонних артерій в дозах, що становили  $ED_{50}$  за актопротекторною активністю в умовах плавальної проби (О.П. Лонська, 2008). Антигіпоксичну дію в першому випадку оцінювали за тривалістю біоелектричної активності серця (БЕАС), в другому – за показником летальності щурів з гострим порушенням мозкового кровотоку (ГПМК) в динаміці.

Задля розуміння механізмів актопротекторної дії проводили вивчення стану біоенергетичного обміну в крові, печінці та м'язах щурів після посиленого фізичного навантаження на 15-й день щоденного введення адемоу, як і бемітилу, на тлі тренувань (біг у третбані щоденно по 10 хв) (О.Я. Міщенко та ін., 2002). Вміст аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ), глікогену та глюкози в гомогенатах м'язів визначали згідно з описаними методиками (М.И. Прохорова, 1982; В.В. Меньшиков и др., 1987). Енергетичний заряд розраховували за формулою (D.E. Atkinson, 1968).

В сироватці крові визначали рівень лактату (Л), пірувату (П), їх співвідношення (Л/П), рівень глюкози та ліпідів (М.И. Прохорова, 1982; В.В. Меньшиков и др., 1987).

В гомогенатах печінки визначали вміст РНК та ДНК (Л.М. Воронина та ін., 1996) та концентрацію глікогену (В.В. Меньшиков и др., 1987). Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в печінці оцінювали за вмістом кінцевого продукту ліпідпереокиснення - малонового диальдегіду (МДА) (И.Д. Стальная, Г.Г. Гаришвили, 1977). Стан антиоксидантної системи (АОС) - за рівнем відновленого глутатіону (Г.О. Круглікова, І.М. Штурман, 1976).

### **Результати дослідження та їх обговорення.**

Результати досліджень впливу адемоу в порівнянні з бемітилом на тривалість плавальної проби у щурів в умовах гемічної гіпоксії наведено в табл.7.1.

Таблиця 7.1

**Вплив адемолу та бемітилу на тривалість плавального тесту у щурів в умовах гемічної гіпоксії (M±m, n=7)**

Умови досліджу	Доза, мг/кг	Тривалість плавання, с	Динаміка, %
Інтактні тварини	-	411,4±60,5	-
Контроль	-	180,7±16,6 <sup>#</sup>	-128,0 <sup>i</sup>
Адемом + гіпоксія	2,8	300,0±26,5*	+66,0 <sup>к</sup>
Бемітил + гіпоксія	33,5	269,3±24,9*	+49,0 <sup>к</sup>

Примітки:

1. \* -  $p < 0,05$  відносно контролю;
2. # -  $p < 0,05$  відносно інтактних тварин.
3. <sup>i</sup> – динаміка відносно інтактних тварин;
4. <sup>к</sup> – динаміка відносно контролю.

Як видно з представлених даних, у щурів, які підлягали дії гемічної гіпоксії, фізична працездатність вірогідно знижувалась в середньому на 128 % порівняно з інтактними тваринами. В групах щурів, яким попередньо вводили адемом, так само як і бемітил, фізична витривалість вірогідно зростала порівняно з контрольною групою, відповідно на 66 та 49 %. Отже за величиною актопротекторного ефекту адемом співставляється з референс-препаратом.

Оскільки в попередніх досліджах встановлено, що похідним адамантану, як і бемітилу, притаманні ноотропні властивості (Л.М. Зайцев та ін., 1999; ,

Ю.В. Короткий та ін., 2003). Тому представляло інтерес оцінити вплив адемолу в порівнянні з бемітилом на фізичну витривалість щурів з модельованою ішемією мозку.

Фізичну витривалість тварин оцінювали за допомогою плавальної проби та статичної витривалості на горизонтальному стрижні, що обертається, у різні строки експерименту після моделювання ішемії мозку (однобічна перев'язка сонної артерії) - на 5-ту та 15-ту добу – в терміни, коли спостерігаються найбільш виразні зміни в біоенергетичних показниках ішемізованого мозку (І.М. Башкін, 1994, І.Ф. Беленічев та ін, 2001). Крім того відомо, що на 3-5-ту добу фокальної ішемії відбувається остаточне формування інфаркту мозку (Е.И. Гусев и др., 1999). Досліджуване похідне адамантану, як і бемітил, вводили щоденно в/о протягом 15 діб. Результати досліджень наведено в табл.7.2 та 7.3.

Таблиця 7.2

**Вплив адемолу в порівнянні з бемітилом на тривалість плавального тесту тварин на 5-ту та 15-ту добу після однобічної перев'язки загальної сонної артерії (M±m, n=7)**

Умови досліджу	Доза, мг/кг	5-й день		15-й день	
		Тривалість плавання, с	Динаміка, %	Тривалість плавання, с	Динаміка, %
Інтактні тварини	-	204,6±17,4	-	204,3±19,7	-
Гіпоксія без лікування (контроль)	-	129,9±9,4 <sup>#</sup>	-36,5 <sup>i</sup>	187,7±19,7	-8,0 <sup>i</sup>
Гіпоксія+Адемомол	2,8	189,4±16,3 <sup>*</sup>	+46,0 <sup>к</sup>	268,9±20,7 <sup>*</sup>	+43,0 <sup>к</sup>

Гіпоксія+Бемітил	33,5	206,4±7,1*	+59,0 <sup>к</sup>	257,1±12,9*	+37,0 <sup>к</sup>
------------------	------	------------	--------------------	-------------	--------------------

Примітки:

1. \* -  $p < 0,05$  відносно контролю;
2. # -  $p < 0,05$  відносно інтактних тварин.
3. <sup>i</sup> – динаміка відносно інтактних тварин;
4. <sup>к</sup> – динаміка відносно контролю.

В ході експериментів встановлено, що однобічна перев'язка загальної сонної артерії у нелікованих щурів призводила до зменшення їх фізичної працездатності, що в найбільшій мірі помітно було на 5-ту добу досліду: тривалість плавального тесту в цей період вірогідно зменшувалась відносно інтактних тварин в середньому на 36,5 % (див. табл. 7.2). На 15-ту добу експерименту тривалість плавання щурів з модельованою ішемією мозку практично не відрізнялась від інтактних тварин. Отримані дані вказують на те, що критичним періодом ішемії мозку є 5-а доба експерименту, що цілком співпадає з даними літератури (І.М. Башкін, 1994, І.Ф. Бєленічев та ін, 2001).

Лікування піддослідних щурів з ішемією мозку адемолом, як і бемітилом, проявилось вірогідним зростання фізичної витривалості тварин в критичний період в зазначених умовах експерименту. Під впливом цих речовин тривалість плавальної проби збільшилась, відповідно на 46 та 59 %, відносно нелікованих щурів ( $p < 0,05$ ), сягаючи рівня інтактних тварин.

Оцінюючи результати проведених досліджень на 15-ту добу ішемії мозку у щурів (див. табл. 7.2), можна відмітити, що адемолом, подібно до бемітилу, гальмує зниження фізичної працездатності тварин в ускладнених умовах, як і на 5-й день експерименту. Про це свідчили показники приросту тривалості плавання під впливом зазначених речовин, які становили, відповідно, 43 та 37 % відносно нелікованого контролю ( $p < 0,05$ ).

Аналогічні закономірності впливу похідного адамантану та еталонного актопротектора бемітилу на фізичну працездатність щурів з ішемією мозку спостерігались і при дослідженні статичної працездатності (див. табл. 7.3). На 5-ту добу – критичний період експерименту – адемом, подібно до бемітилу, сприяв вірогідному зростанню часу утримання тварин на стрижні, що обертається, відповідно на 45 та 64 %, відносно контролю.

Таблиця 7.3

**Вплив адемоу в порівнянні з бемітилом на статичну витривалість щурів на 5-ту та 15-ту добу після одnobічної перев'язки загальної сонної артерії (M±m, n=7)**

Умови досліджу	Доза, мг/кг	5-а доба		15-а доба	
		Тривалість утримання на стрижні, с	Динаміка,%	Тривалість утримання на стрижні, с	Динаміка,%
Інтактні тварини	-	249,0±29,4	-	164,6±16,6	-
Гіпоксія без лікування (контроль)	-	134,4±18,5 <sup>#</sup>	-46 <sup>i</sup>	149,1±14,4	-9 <sup>i</sup>
Гіпоксія +адемом	2,8	194,3±13,6 <sup>*</sup>	+45 <sup>к</sup>	209,3±21,2 <sup>*</sup>	+40 <sup>к</sup>
Гіпоксія +Бемітил	33,5	219,9±21,2 <sup>*</sup>	+64 <sup>к</sup>	235,0±19,7 <sup>*</sup>	+58 <sup>к</sup>

Примітки:

1. \* -  $p < 0,05$  відносно контролю;
2. # -  $p < 0,05$  відносно інтактних тварин;

3.<sup>i</sup> – динаміка відносно інтактних тварин;

4.<sup>k</sup> – динаміка відносно контролю.

Виявлена тенденція до зростання статичної працездатності тварин з модельованою ішемією мозку на тлі дії адемола, так само як і бемітилу, зберігалась і на 15-ту добу експерименту: тривалість утримання щурів на обертовому стрижні вірогідно збільшилась відповідно на 40,0 та 58,0 %.

Таким чином, курсове лікування щурів з модельованою ішемією мозку (однобічна оклюзія загальної сонної артерії) адемолом, так само як і бемітилом, сприяло зростанню фізичної працездатності, як динамічної так і статичної, в заданих умовах експерименту, що можна розцінити як наявність у них акто- та нейропротекторного ефектів.

На наступному етапі дослідили протигіпоксичні властивості адемола на моделі гострої асфіксії .

Як свідчать наведені дані (табл. 7.4.), адемола, як і бемітил, при одноразовому профілактичному введенні в організм піддослідних тварин проявляє протигіпоксичну дію. На це вказувало збільшення на тлі їх дії тривалості БЕАС порівняно з контрольною групою тварин: відповідно на 19,0 % та 20,0 % ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 7.4

**Вплив адемола та бемітилу на тривалість біоелектричної активності серця у щурів ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )**

Умови дослідження	Доза, мг/кг	Тривалість біоелектричної активності серця, с	Динаміка відносно контролю, %
Асфіксія без корекції (контроль)	-	468,4 ± 11,3	-
Адемола + асфіксія	5,0	556,9 ± 12,1*	+19,0

Бемітил + асфіксія	50,0	562,9 ± 34,8*	+20,0
--------------------	------	---------------	-------

Примітка. \* -  $p < 0,05$  відносно контролю.

Отже, наведені дані можуть бути свідченням наявності у адемолу антигіпоксичного ефекту, за величиною якого він співставляється з бемітилом.

Оцінюючи отримані дані протигіпоксичної активності досліджуваних речовин в умовах гострої асфіксії, слід відмітити, що на думку деяких дослідників (Н.Н. Самойлов, 2002), антигіпоксанти можуть бути двох типів: одні мають виражену захисну дію при гострих формах гіпоксії та суттєво не впливають на фізичну працездатність при помірній гіпоксії, інші – підвищують фізичну працездатність при помірній гіпоксії та мало впливають на тривалість життя при гострій гіпоксії. Крім того, відомо (В.Д. Лук'янчук та ін., 2002), що антигіпоксичні властивості хімічних сполук можуть виявлятися на одних моделях і бути відсутніми на інших. Тому вивчення протигіпоксичних властивостей адемолу, як можливої складової його актопротекторної дії, було продовжено на другій моделі гіпоксії.

На наступному етапі дослідили вплив адемолу на перебіг циркуляторної гіпоксії мозку у щурів (двобічна оклюзія загальних сонних артерій). Препаратом порівняння служив пірацетам (100 мг/кг), який часто використовується в якості еталонного препарату у даних умовах (В.В. Юшкова, 1999; Г.І. Степанюк та ін., 2002). Адемол вводили внутрішньоочеревинно за 40-50 хв до двобічної перев'язки загальних сонних артерій в дозах 0,5; 1,0 та 2,8 мг/кг, що становило 0,1-1,0 % від його ЛД<sub>50</sub>. Протигіпоксичну активність досліджуваних речовин оцінювали за їх впливом на летальність щурів в заданих умовах експерименту. Отримані данні наведені в табл. 7.5.

Таблиця 7.5

**Вплив адемолу та пірацетаму на летальність щурів в умовах циркуляторної гіпоксії мозку (n=10)**

Умови досліджу	Доза, мг/кг	Показник летальності (%) через						
		1 год	6 год	12 год	24 год	36 год	48 год	72 год
Гіпоксія без корекції (контроль)		40	70	80	80	100	100	100
Адемол+гіпоксія	0,5	10*	20*	30*	50*	60*	70*#	80
Адемол+гіпоксія	1,0	0*	10*	10*	30*	40*	50*#	60*#
Адемол+гіпоксія	2,8	0*	30*	40*	50*	60*	70*#	80
Пірацетам+гіпоксія	100,0	0*	10*	30*	40*	60*	100	100

Примітки:

1. \* -  $p < 0,05$  відносно контролю;

2.#-  $p < 0,05$  відносно пірацетаму.

Так, в контрольній групі переважна більшість тварин (70 %) з ГПМК гинула протягом перших 6 год досліджу, що можна вважати критичним періодом даного патологічного стану. 100 % тварин загинули в контролі на 36-ту годину після модельованого ГПМК. Попереднє введення щурам з двобічною перев'язкою сонних артерій досліджуваного похідного адамантану, так само як і пірацетаму, зменшувало показник летальності тварин та відстрочувало їх загибель.

Найбільш ефективно проявив себе адемол в дозі 1 мг/кг, під впливом якого подібно до пірацетаму (100 мг/кг), показник летальності в критичний період експерименту (6-а година) був в 7 разів меншим відносно контрольного показника. На 36-ту годину досліджу, коли в контролі загинули всі щури з циркуляторною гіпоксією мозку, вказане похідне адамантану в дозі 1 мг/кг в



певній мірі переважало за величиною захисного ефекту пірацетам: показник летальності тварин становив, відповідно, 40 та 60 % ( $p > 0,05$ ). Захисна дія пірацетаму припинялась після 36-ї години моделювання ГПМК. На 72-гу годину експерименту за величиною захисної дії адемом (1 мг/кг) вірогідно переважав референс-препарат: показник летальності становив, відповідно, 60 % проти 100 % на тлі пірацетаму.

Оцінюючи отримані дані, можна заключити, що адемом володіє антигіпоксичною (протиішемічною) активністю. Найбільший за величиною захисний ефект адемому в заданих умовах експерименту спостерігався в дозі 1 мг/кг, співставляючись при цьому, а подекуди і переважаючи, пірацетам (100 мг/кг). Співставляючи дози адемому та пірацетаму в даних умовах експерименту, можна відмітити, що за величиною антигіпоксичної (протиішемічної) активності похідне адамантану в 100 разів переважає референс-препарат.

На наступному етапі дослідження представляло інтерес більш поглиблено вивчити можливі механізми дії адемому.

При дослідженні механізмів актопротекторної дії адемому та бемітилу на тлі тренувань бігом у третбані встановлено, що вони викликали вірогідне зростання синтезу РНК та ДНК в печінці щурів (табл. 7.6.). Це може бути ознакою посилення адемомом, як і бемітилом, білоксинтезуючої функції в зазначеному органі. Оскільки, за даними літератури (А.В. Смирнов, 1993; 1996), в основі актопротекторної дії бемітилу лежить активація протеїнсинтезу, і, насамперед, білків-ферментів енергетичних процесів, зазначений вплив адемому на синтез нуклеїнових кислот можна розцінити як один із механізмів його спроможності стимулювати фізичну працездатність тварин, про що свідчило зростання часу бігу тварин на 15-ту добу дослідження на тлі обох речовин.

Іншим, не менш важливим, компонентом актопротекторного ефекту адемолу можна вважати його спроможність усувати енергодефіцит в скелетних м'язах щурів на фоні тривалого фізичного навантаження (15-денне тренування бігом у третбані). На це вказувала тенденція до відновлення на тлі введення адемолу, як і бемітилу, рівня аденіннуклеотидів та енергетичного заряду в скелетних м'язах. До того ж викликане адемолом, як і референс-препаратом, покращення енергозабезпечення фізичної працездатності в умовах її виснаження супроводжувалось вірогідним зростанням рівня головного енергетичного палива для м'язової роботи - глікогену - в скелетних м'язах та печінці, що корелювало із тенденцією до збільшення концентрації глюкози в крові та скелетних м'язах тварин ( $p > 0,05$ ). Водночас під впливом адемолу в такій же мірі, як і на тлі бемітилу, відбувалось вірогідне зменшення рівня лактату в крові, одного із гальмівних факторів фізичної працездатності (С.А. Олійник, 2012), відповідно на 72 та 74 % відносно контрольної групи.

Таблиця 7.6

### Вплив адемолу та бемітилу на показники біоенергетичного обміну

Показник	Інтактні щурі	Щурі після фізичного навантаження		
		Контроль	Адедол (2,8 мг/кг)	Бемітил (33,5 мг/кг)
Сироватка крові				
Лактат (мм/л)	1,53 ± 0,3	8,12 ± 0,91*	2,24 ± 0,45 <sup>#</sup>	2,08 ± 0,3 <sup>#</sup>
Піруват (мм/л)	0,56 ± 0,04	0,82 ± 0,03*	0,68 ± 0,06	0,72 ± 0,07
Л/П	2,73	9,9	3,29	2,89

Глюкоза (мм/л)	4,62 ± 0,75	5,64 ± 0,45	6,88 ± 0,8	6,46 ± 0,62
Ліпіди (г/л)	2,58 ± 0,15	5,1 ± 0,21*	2,93 ± 0,27 <sup>#</sup>	2,42 ± 0,24 <sup>#</sup>
Гомогенат печінки				
РНК (мкг/мл)	13,8 ± 0,9	15,5 ± 0,75	19,8 ± 1,4* <sup>#</sup>	19,2 ± 1,5* <sup>#</sup>
ДНК (мкг/мл)	62,4 ± 1,8	69,4 ± 2,1*	83,3 ± 3,2* <sup>#</sup>	84,7 ± 4,1* <sup>#</sup>
Глікоген (мг/г тк)	49,8 ± 2,7	58,3 ± 2,9	114,6 ± 8,3* <sup>#</sup>	121,3 ± 10,1* <sup>#</sup>
МДА (мм/г тк)	88,5 ± 3,2	129,6 ± 7,6*	98,9 ± 3,3* <sup>#</sup>	96,9 ± 5,1 <sup>#</sup>
Відновлений глутатіон (мм/г тк)	7,62 ± 0,6	4,27 ± 0,45*	5,81 ± 0,45* <sup>#</sup>	6,61 ± 0,75 <sup>#</sup>
Гомогенат скелетних м'язів				
Глікоген (мг/г)	21,4 ± 1,5	14,2 ± 1,4*	19,8 ± 1,6 <sup>#</sup>	20,5 ± 2,0 <sup>#</sup>
Глюкоза (мкм/г тк)	4,84 ± 0,45	5,18 ± 0,3	5,53 ± 0,42	5,46 ± 0,51
АТФ (мкм/г тк)	3,84 ± 0,21	2,23 ± 0,18*	2,62 ± 0,27	2,76 ± 0,26
АДФ (мкм/г тк)	0,632 ± 0,045	0,885 ± 0,076*	0,790 ± 0,06	0,776 ± 0,045
АМФ (мкм/г тк)	0,184 ± 0,02	0,356 ± 0,038*	0,234 ± 0,032 <sup>#</sup>	0,214 ± 0,024 <sup>#</sup>
Енергетичний заряд	0,893	0,804	0,827	0,839

Примітки: 1. \* -  $p \leq 0,05$  відносно інтактних тварин;

2. <sup>#</sup> -  $p \leq 0,05$  відносно контролю.

Літературні дані (А.В. Смирнов, 1993; Э.С. Питкевич и др., 2001), свідчать про те, що серед білків, які підсилено синтезуються на фоні бемітилу, основне значення для підтримання фізичної працездатності мають ферменти глюконеогенезу та антиоксидантного захисту. Як відомо (А.В. Смирнов, 1993; Р. Мохан и др., 2001), роль глюконеогенезу полягає в утилізації молочної кислоти, як одного з головних факторів, що знижують фізичну працездатність, і в ресинтезі вуглеводів, насамперед в печінці та нирках, як важливого джерела енергії при м'язових навантаженнях, запаси яких в організмі доволі обмежені. Експериментальна перевірка підтвердила активацію глюконеогенезу бемітилом при фізичних навантаженнях (А.В. Смирнов, 1993; 1996). Аналізуючи отримані нами результати, можна припустити, що подібний механізм притаманний і адемолу, оскільки він, подібно до бемітилу, поряд із зменшенням рівня лактату в крові викликав зростання вуглеводного резерву в організмі щурів в умовах тривалого фізичного навантаження.

До того ж вірогідне зменшення рівня ліпідів в крові тренуваних бігом щурів на фоні введення адемолу (на 42,5 %), як і бемітилу (на 47,5 %), може бути свідченням їх спроможності активувати ліполіз та ефективно використовувати ще одне джерело енергії для м'язової діяльності (Р. Мохан и др., 2001; О.Я. Міщенко та ін., 2002).

Вірогідне зниження на тлі адемолу, як і бемітилу, рівня МДА, відповідно на 24 і 25 %, та зростання концентрації ВГ, відповідно на 36 та 55 %, відносно контролю (біг без корекції) на фоні фізичних навантажень (див. табл. 7.6) можна розцінити, як нормалізуючий вплив зазначених речовин на мембранні процеси, що дає підставу стверджувати про ще один механізм актопротекторного ефекту адемолу та бемітилу - мембраностабілізуючу дію.

Узагальнюючи дані щодо можливих механізмів актопротекторної дії адемолу, можна припустити, що останньому притаманна здатність стимулювати синтез РНК та ДНК в печінці та, можливо, білків-ферментів енергетичного обміну, що сприяє відновленню рівня макроергів в скелетних

м'язах та кращому перебігу метаболічних процесів на тлі його мембраностабілізуючої та протигіпоксичної дії.

Таким чином, адемол в такій же мірі, як і бемітил, спроможний підсилювати фізичну витривалість організму. Механізм актопротекторного ефекту адемолу пов'язаний із здатністю покращувати енергетичні процеси в печінці та скелетних м'язах, наявністю протигіпоксичного та мембраностабілізуючого ефектів.

## РОЗДІЛ 8

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ПРОВЕДЕНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

**Г.І. Степанюк, В.М. Мороз, О.А. Ходаківський, Н.І. Волощук**

У скринінгових дослідженнях церебропротекторної активності в ряду нових похідних адамантану встановлено, що найбільш перспективною сполукою для створення нового лікарського засобу із вказаною дією є: 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (ЮК-1, адемом). За ступенем захисного ефекту на ішемізований мозок щурів (двобічна оклюзія сонних артерій) адемом в оптимальній дозі 2 мг/кг зіставлявся з цитиколіном (250 мг/кг), дещо перевуршуючи мексидол (100 мг/кг): у критичний період ГПМК (12 год), коли в групі контрольних (не лікованих) тварин загинуло 60% щурів, показник летальності щурів на тлі профілактичного введення вказаних речовин становив відповідно 0%, 0% та 20%. При цьому адемом за церебропротекторною дією виявився більш ефективним, ніж його четвертинні солі ЮК-67, 70 та 76.

Дослідження залежності «структура-дія» показали, що величина захисного ефекту досліджуваних адамантанів та моделі ішемічного інсульту залежить від структури аміногрупи. Так, наявність тут у адемоу (ЮК-1) морфоліну забезпечує найбільший ступінь церебропротекції. Достатньо виразна захисна дія на ішемізований головний мозок, хоча і дещо менша, ніж у адемоу, зареєстрована у сполуки ЮК-67, в структурі якої замість морфоліну міститься піролідин. Введення в алоксигрупу 1-адамантильного радикалу, а в якості амінного фрагменту діетиламін, який кватернізовано йодистим метилом (сполука ЮК-70), також позначилось певним зростанням величини церебропротекторного ефекту, хоча і меншим, ніж у адемоу.

Введення в алкокси групу 1-адамантилетильний (ЮК-4) та 1-адамантилметильний (ЮК-53, 54, 55) фрагменти, а в якості аміногрупи

відповідно діетиламін, N-2-оксіетилпіперазин або морфолін, призвело до зниження ступеню церебропротекторної дії.

Виразна нейропротекторна активність адемолу проявилась також при його лікувальному застосуванні в умовах модельного ішемічного інсульту. Так, курсова терапія гербел (монгольських піщанок) упродовж чотирьох діб модельного ГПМК адемолом у дозі 2 мг/кг за ефективністю не поступалась цитиколіну (250 мг/кг в/о) та мексидолу (100 мг/кг), вірогідно переважаючи пірацетам (400 мг/кг) упродовж перших трьох діб судинно-мозкової катастрофи.

Аналогічні результати були отримані також при терапевтичному введенні адемолу щурам із БКО. Експериментальне лікування щурів із ГПМК адемолом (2 мг/кг), як і препаратами порівняння мексидолом (100 мг/кг), цитиколіном (250 мг/кг) та актовегіном (16 мг/кг), забезпечувало стовідсотковий захист головного мозку впродовж першої години БКО. Причому на тлі похідного адамантану летальні випадки не реєструвалися впродовж 6 годин (при введенні мексидолу - впродовж перших 3 годин) від моменту каротидної оклюзії. На 12-ту годину спостереження (критичний період у розвитку експериментального ГПМК) у групі щурів, які отримували адемомол, смертність склала лише 4% проти 60% порівняно з тваринами, яким в умовах модельної церебральної ішемії вводили лише 0,9% розчин NaCl.

Адемомол суттєво відрізняється від своїх структурних аналогів - ЮК-4 та четвертинних солей адемолу ЮК-67, ЮК-70 та ЮК-76 за впливом на активність NMDA-рецепторів. У протележність від ЮК-4, ЮК-67, ЮК-70, ЮК-76, які є типовими блокаторами NMDA-рецепторно-канальних комплексів ізольованих клітин гіпокампу щурів, адемомол, завдяки його здатності ініціювати перехід активованого NMDA каналу в блоковану форму й назад, що забезпечує зростання середньої тривалості пачок імпульсів, а отже й кількості перенесених каналом зарядів, можна розглядати швидше як потенціатор, ніж блокатор NMDA рецепторно-канальних ансамблів із швидкою блокадою/деблокадою NMDA-рецепторів.

Відомо, що зниження активності NMDA-рецепторів попереджає розвиток некрозу нервових клітин та пов'язану з апоптозом ексайтотоксичність (Е.И.Гусев, В.И.Скворцова, 2001; И.Ф.Беленичев и др., 2009; И.Ф.Беленичев и др., 2015). Однак, слід відмітити дуже суттєву деталь - повна інактивація вказаних рецепторів *in vivo* призводить до поширеного апоптозу в ЦНС, що посилює нейродегенеративні процеси та блокує здатність клітин до виживання в умовах ішемії (В.Р. Meloni et al, 2006; Y wang et al, 2010 А.Н. Кондратьев и др., 2015). Враховуючи, що фізіологічна активність NMDA-рецепторів необхідна для нормального функціонування нервової тканини, клінічний успіх може бути досягнутий лише за умов використання антагоністів NMDA-рецепторів, які селективно знижують їх надлишкову активацію (Г. И. Губина-Вакулик; У.Ф. Фесенко, 2010; В. Никонов, И. Б. Савицька 2012; W. Neuhauset al, 2012; И.Ф.Беленичев и др., 2015)

Аналізуючи отримані результати та дані літератури щодо впливу модуляторів NMDA-рецепторів на перебіг церебральної ішемії, можна зробити висновок, що саме швидка блокада/деблокада NMDA-рецепторів під впливом адемолу на відміну його структурованих аналогів ЮК-4, 67, 70 та 76 – блокаторів NMDA-рецепторів, забезпечує нормальне функціонування неушкодженої нервової тканини та нейронів зони пенумбри, селективно знижуючи надлишкову активацію NMDA-рецепторів. Можна вважати, що це ймовірно є одним із головних механізмів церебропротекторної дії адемолу при модельному ГПМК у щурів та гербел. Крім того, поряд із більшою церебропротекторною ефективністю адемола переважає в активності структурні аналоги та четвертинні солі, оскільки проявляє виразну захисну дію на ішемізований мозок у значно меншій дозі – 2 мг/кг.

Церебропротекторна дія адемола певною мірою пов'язана з наявністю у нього стимулювального впливу на кровопостачання головного мозку. Результати спеціальної серії дослідів свідчать, що 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанол гідрохлорид (адемола) покращує кровообіг у каротидному басейні не тільки в умовах наркозу, але й при ГПМК. Ця



властивість є важливою складовою та, очевидно, первинною ланкою механізму церебропротекторної дії досліджуваної сполуки. За виразністю даного ефекту адемомол не поступається одному з еталонних цереброваскулярних засобів вінпоцетину.

Як свідчать сучасні джерела літератури (И. Ф. Беленичев и др., 2008; И.Ф.Беленичев и др., 2009; И.Ф.Беленичев и др., 2015; В. Шведський та ін., 2011) інтегративними показниками, що дозволяють оцінити якість захисного впливу потенційного нейропротектора на ішемізований головний мозок, є, поряд із зменшенням летальності, швидка ліквідація неврологічного дефіциту та відновлення когнітивно-мнестичних функцій.

Дійсно, як показали результати дослідження, у щурів із моделлю гострої церебральної ішемії поряд із значною летальністю впродовж перших 4-х діб мав місце розвиток важкого неврологічного дефіциту та погіршення процесів навчання і пам'яті у відновному періоді. Експериментальна курсова терапія щурів адемомолом ліпше за цитиколін сприяла не тільки зменшенню показника смертності, але й виразності неврологічних порушень, що супроводжувалося покращенням мнестичних функцій у тварин із ГПМК на 21-шу добу спостереження.

Відомо, що формування ішемічного вогнища при ГПМК супроводжується деструктивно-дегенеративними змінами в цитоархітектоніці нервової тканини, ознакою чого є зменшення площі, щільності нейронів та вмісту в них НК. Спроможність біологічно активних речовин попереджати виникнення порушень пластичного обміну та збідніння структурних компонентів нейронів є однією із ознак наявності у них захисної дії в умовах церебральної ішемії (Г. И. Губина-Вакулик, У. Ф. Фесенко. 2010; И. С. Чекман и др, 2010)

Таку дію при модельному ГПМК нами виявлено у адемомолу. Вже на 4-ту добу лікувального введення адемомол ліпше за цитиколін протидіяв зменшенню площі тіл нейронів та вмісту в них НК: ці показники були вірогідно більшими в порівнянні з показниками групи контрольної патології у середньому

відповідно на 13,8% та 17,9%, а з показниками щурів, які отримували референс- препарат, відповідно на 7,3% та 13,4%. Поряд з цим, терапія модельного ГПМК адемолом гальмувала зростання кількості деструктивно змінених нейронів вже у гострому періоді ішемії: їх кількість була в середньому на 21,2% меншою, ніж у щурів контрольної патології та на 11,1% нижчою, ніж у тварин, яких лікували цитиколіном ( $p < 0,05$ ).

Терапія щурів із гострою церебральною ішемією адемолом та меншою мірою цитиколіном стимулювала активність мікрогліальних клітин, що суттєво підвищувало швидкість елімінації загиблих нейронів. На користь такого твердження свідчить підвищення індексу відносної активності мікроглії більше одиниці. Так, на 4-ту добу експерименту він становив відповідно 1,3 та 1,3, а на 21-шу - 2,9 та 2,6. У відновному періоді (21-ша доба ГПМК) на тлі адемолу спостерігався подібний за позитивним вектором коригувальний вплив на морфо- функціональний стан нейронів сомато- сенсорної кори головного мозку.

Слід підкреслити, що впродовж усього терміну спостереження адемолом за цілою низкою мікроморфометричних показників, які, певною мірою характеризують величину його церебропротекторної дії, перевершував цитиколін.

На нашу думку, адемолом має нейропротективну дію переважно на нейрони зони пенумбри, попереджуючи в них деструктивні процеси в гострому періоді ГПМК. У той же час у зоні ішемічного вогнища він сприяв переходу пошкоджених клітин до апоптозу впродовж усього терміну спостереження. Нейроцити кори головного мозку, в яких апоптоз прийняв незворотній характер, підлягали лізису, що й знизило кількість деструктивно змінених нейронів у щурів, які отримували вказану сполуку.

Подальше вивчення церебропротекторної дії адемолу в умовах ГПМК показало, що його захисний вплив на головний мозок, подібно до цитиколіну, обумовлений, у першу чергу, спроможністю усувати в нейронах енергодефіцит, нормалізувати порушені показники оксидантно-

антиоксидантної рівноваги та послаблювати прояви метаболічного дисбалансу. Причому за цими властивостями досліджуване похідне адамантану не поступалось, а подекуди перевершувало цитиколін.

На 4-ту добу експериментального інсульту - термін, коли за даними літератури (В. А. Яворская и др., 2011; S. N. Weis et al., 2011; G.Solaini et al.,2010) спостерігаються найвиразніші зміни в перебігу енергетичних та оксидативних процесів нейронів - за спроможністю відновлювати вміст АТФ, лактату, малату й пірувату, адемомол вірогідно перевершував референс-препарат. Оскільки одним із ключових механізмів індукції некротичних змін у нервових клітинах ішемізованого мозку, за даними літератури (Беленичев И. Ф. Павлов С. В. 2010) є викликаний дефіцитом макроергів процес внутрішньоклітинного накопичення іонів  $Ca^{2+}$ , можна вважати, що саме спроможність адемола, як і цитиколіну, усунути енергодефіцит є одним із провідних механізмів їх захисної дії на ішемізований головний мозок.

За даними літератури (Э. А. Китаева и др., 2009; X. Wang, E. K. Michaelis, 2010) одним із значущих механізмів дії сучасного церебропротектора при ішемічних ушкодженнях головного мозку є здатність препарату перешкоджати розвитку метаболічного ацидозу. Останній обов'язково супроводжує ішемічно-гіпоксичне ураження нервових клітин і безпосередньо або опосередковано через патофізіологічні каскади активує процеси апоптозу та некрозу (А. Н. Кондратьев, 2009; О. П. Мошенська, 2011)

Аналіз динаміки основних показників КЛР у венозній крові сагітального синусу монгольських піщанок (гербел) свідчить, що модельне ГПМК вже через 1 добу після оклюзії СА супроводжувалось розвитком змішаного ацидозу (метаболічного та дихального) з подальшою декомпенсацією на 4-ту добу ішемії. Лікувальне введення адемола перешкоджало формуванню дисбалансу кислотно-лужної рівноваги в тканинах головного мозку. Так, на тлі терапії адемомол вже наприкінці першої доби ГПМК вміст буферних основ АВ, СВ та ВВ у венозній крові сагітального синуса був вищим відносно показників контрольної патології

відповідно на 61,1%, 64,7% та 39,2% і майже не відрізнявся від фонових величин, а значення  $p\text{CO}_2$  знизилось на 10,6% ( $p < 0,05$ ). Водночас адемола сприяв відновленню рівня ВЕ, який на 4-ту добу ГПМК залишався меншим за фоновий у середньому лише на 6,1 %. Мексидол хоча й сприяв покращанню показників КЛР протягом першої доби, однак повної нормалізації не було досягнуто навіть упродовж чотириденної терапії: вміст буферних основ SB та ВЕ залишився вірогідно меншим відносно фонового в середньому на 28,1% та 120% відповідно, що вказувало на залишкові явища метаболічного ацидозу. Спроможність адемола відновлювати в ішемізованій півкулі головного мозку порушені показники КЛР, на нашу думку, може свідчити про нормалізацію метаболічних процесів, причому за цією властивістю похідне адамантану перевершувало мексидол.

Зменшення ацидозу на тлі адемола відіграє важливу роль у реалізації його церебропротекторних ефектів. Порушення кислотно-лужного балансу має як прямий, так і опосередкований вплив на ініціацію некротичних або апоптотичних програм нейрональної смерті в умовах ГПМК (Э. А. Китаева и др., 2009; X. Wang, E. K. Michaelis, 2010). Глутаматна нейротоксичність поряд із підвищенням у міжклітинному просторі концентрації водневих іонів, через цілу низку сигнальних систем індукує оксидативний та нітрозуючий стреси, результатом яких є модифікація іонних каналів та мембран нейронів (А. Н. Кондратьев, 2009; О. П. Мошенська, 2011). Порушення мембранної цілісності нейронів віддзеркалюється у морфофункціональних змінах відповідних структур головного мозку, перш за все у корі та гіпокампі, що відіграє важливу роль у формуванні неврологічного статусу пацієнтів з ГПМК (U. Dirnag et al., 2009; K. Niizuma et al., 2009).

Згідно з даними [ М. А. Трешинская, 2012; R. S. Pandya et al., 2011] одним із провідних механізмів захисної дії сучасного церебропротекторного засобу є його коригувальний вплив на обмін NO, зокрема на розвиток у тканинах головного мозку нітрозуючого стресу. Гіперпродукція NO та інших АФК, яка обумовлена активацією NMDA-рецепторів, призводить не тільки до

безпосереднього ушкодження білкових структур нейронів (рецептори, іонні канали, ферменти) в гострому періоді інсульту, але й безпосередньо бере участь у реалізації механізмів нейроапоптозу (В. В. Войткова, 2010; И. С. Чекман и др., 2010; F. Lucibello et al.; 2011).

В проведеному нами дослідженні БКО у нелікованих щурів супроводжувалась дисбалансом у системі монооксиду азоту в структурах головного мозку щурів. На цей факт вказувало підвищення загальної активності NOS та рівня стабільних метаболітів NO відповідно у 2,3 та 2,7 разу на 4-ту добу ішемії ( $p < 0,05$ ). Про факт гіперпродукції монооксиду азоту свідчило також паралельне зниження вмісту його джерела L-Arg у середньому на 93,1 % ( $p < 0,05$ ). На нашу думку, на цій стадії церебральної ішемії, яка клінічно відповідає гострому періоду ішемічного інсульту, надмірне зростання утворення NO відбувається переважно за рахунок активації  $Ca^{2+}$ -залежної NOS. Це цілком узгоджується з експериментальними та клінічними даними, які вказують на особливу періодичність експресії різних ізоформ NOS у відповідні періоди інсульту. Так, у перші 4 доби ішемії експресія цього типу NOS пов'язана з надмірною активацією NMDA-рецепторів та розвитком глутаматної ексайтотоксичності. Свого піку її активність сягає на 4-ту добу ішемії. У відновному постішемичному періоді (21 доба) гіперпродукція NO обумовлена активацією переважно індукбельної NOS (М. А. Трещинская, 2012; K. Liu et al.; 2009;)

Курсова терапія щурів адемолом та меншою мірою цитиколіном вже в гострому періоді ГПМК чинила позитивний модулювальний вплив на обмін NO і сприяла нормалізації досліджуваних показників. Так, у зазначеному періоді експерименту ступінь активності в головному мозку щурів NOS та рівень NO на тлі ведення адемолу на 4-ту добу спостереження знизився відносно контрольної групи в середньому відповідно на 35,6% та 43,5% ( $p < 0,05$ ), вірогідно перевершуючи цитиколін у 1,3 разу. Опосередковано на зменшення продукції NO вказувало й підвищення в головному мозку тварин вмісту L-Arg. При цьому адемомол вірогідно переважав цитиколін у 1,5 разу.

Подібний коригувальний вплив досліджуваних речовин на активність NOS, вміст стабільних метаболітів монооксиду азоту та L-Arg в головному мозку щурів при даній патології спостерігався і у відновному періоді інсульту.

На нашу думку, адемомол не має прямої інгібувальної дії на експресію в головному мозку NOS у відповідні терміни гострої церебральної ішемії. Цей вплив має опосередкований характер через його модулювальну дію на NMDA-рецептори, особливо у ранньому періоді інсульту, коли превалює активація саме  $Ca^{2+}$ -залежної NOS. Також опосередковано, через зниження надмірного утворення NO адемомол може блокувати синтез пероксинітриду та впливати на механізми реалізації нейроапоптозу. Подібний коригувальний вплив адемомолу на функціонування системи NO в головному мозку за умови його ішемічного ураження поряд із здатністю впливати на функціональний стан NMDA-рецепторів може бути одним із ключових механізмів його церебропротекторної дії.

За даними літератури (А. Н. Баринов, 2012; Q. Ma et al.; 2011) сучасний церебропротекторний засіб повинен володіти достатньо виразними антиоксидантними та антирадикальними властивостями. Ця теза знайшла підтвердження в дії адемомолу в умовах модельного ГПМК. При цьому за величиною антирадикальної активності (спроможністю зменшувати вміст ДК, МДА, АФГ та КФГ) та здатністю зберігати пул ферментів антиоксидантного захисту адемомол вірогідно перевершував цитиколін.

Кореляційний аналіз свідчить, що на моделі ГПМК у щурів адемомол та цитиколін мають неоднакові біохімічні механізми церебропротекторного ефекту. Так, на 4-ту добу ГПМК у групі контрольної патології з'являються відсутні у групі псевдооперованих тварин вірогідні додаткові кореляційні зв'язки між вмістом у головному мозку щурів ТК та МДА ( $r=0,82$ ), АДФ та ДК ( $r=0,75$ ), МДА та малату ( $r=0,84$ ), МДА та АФГ ( $r=0,77$ ), АФГ та КФГ ( $r=0,76$ ), АФГ та АДФ ( $r=0,77$ ), між активністю СОД і вмістом ДК ( $r=0,75$ ), вмістом МДА ( $r=0,78$ ).

Під впливом адемолу виникають вірогідні додаткові зв'язки між вмістом ДК та АМФ ( $r=0,78$ ), ТК та АМФ ( $r=0,76$ ), активністю каталази та вмістом АДФ ( $r=0,88$ ), а також від'ємні зв'язки між вмістом АТФ та АМФ ( $r=-0,77$ ), ТК та АТФ ( $r=-0,80$ ), ТК та АДФ ( $r=-0,80$ ), активністю СОД та вмістом пірувату ( $r=-0,76$ ). У той же час на тлі цитиколіну не мала місце жодна із зазначених кореляцій, проте з'являлись вірогідні додаткові зв'язки між вмістом АДФ та КФГ ( $r=0,94$ ), АМФ та КФГ ( $r=0,75$ ), активністю ГПР та вмістом ТК ( $r=0,75$ ) і АДФ ( $r=0,79$ ), а також від'ємні зв'язки між вмістом ДК та АМФ ( $r=-0,78$ ), АМФ та ДК ( $r=-0,78$ ), АТФ та КФГ ( $r=-0,86$ ), АТФ та АМФ ( $r=-0,87$ ), активністю СОД та вмістом АФГ ( $r=-0,86$ ).

Біохімічний сенс цих кореляцій, зокрема, свідчить, що під впливом адемолу та цитиколіну спряженість обміну аденілових нуклеотидів та утворенням проміжних продуктів ліпопероксидації (ДК та ТК) у ЦНС набуває протилежного характеру. На тлі цитиколіну зростанню вмісту ДК сприяє зменшення рівня АМФ, а на тлі адемолу - навпаки, збільшення. Щодо накопичення ТК, під впливом цитиколіну цьому сприяє зростання вмісту АДФ, а під впливом адемолу - навпаки, зменшення.

У світлі основних постулатів та засад нейропротекторної терапії, поряд із корекцією енергетичного дисбалансу, ліквідацією проявів метаболічного ацидозу, одним із провідних механізмів, які є бажаними для сучасного цитопротектора, є здатність нівелювати прояви оксидативного стресу (М. Ю. Мартынов и др., 2010)

Ретельний аналіз головних патобіохімічних ланок нейрональної ішемії на субклітинному рівні вказує на той факт, що реакційно здатні продукти оксидативного та нітрозуючого стресів, у першу чергу, вражають ліпідні та білкові компоненти мембран нейронів, що за умови пригнічення ендогенних антиоксидантних факторів призводить до загибелі нейрону як структурно-функціональної одиниці нервової тканини (Г. В. Цаканова и др., 2011; К. Niizuma et al.; 2009).

Деескалація проявів енергетичного «голоду», явищ метаболічного ацидозу, ПОЛ та ОМБ, збереження пулу власної антиоксидантної системи в умовах ГПМК під впливом адемолу, як і мексидолу та цитиколіну, є основною запорукою для успішної реалізації їх нейроцитопротекторної дії. На користь такого тлумачення свідчить достовірне зменшення на тлі адемолу, як і мексидолу, активності NSE порівняно із гербелами групи контрольної патології. Досліджуваний ензим, згідно даних літератури, є одним із маркерів нейрональної деструкції (Е. В. Григорьев и др., 2010; А. К. Пискунов, 2010; G. Catherine et al.; 2004). Доведено, що у контрольних тварин (ГПМК + 0,9% розчин NaCl) активність NSE через 24 год після моделювання БКО в 7,5 разу перевищувала показник псевдооперованих щурів, в той час як на тлі адемолу вона зростала лише у 2 рази (під дією мексидолу - в 4,1 разу,  $p < 0,05$ ). Через 96 год під дією адемолу рівень NSE був нижчим, ніж у групі мексидолу, в середньому у 1,7 разу ( $p < 0,05$ ), що вказує на регрес площі нейродеструкції.

На прикладі гострої церебральної ішемії у монгольських піщанок кореляційний аналіз дозволяє зробити висновок про різні механізми спряженості показників КЛР та нейрональної деструкції у нелікованих тварин та лікованих мексидолом або адемолом. У групі контрольної патології на 1-шу добу ішемії виникає відсутня у псевдооперованих тварин вірогідна від'ємна кореляція між рівнем знижених за церебральної ішемії ВВ та ВЕ і рівнем NSE ( $r = -0,82$ ). Це означає, що за умов церебральної ішемії метаболічний ацидоз сприяє руйнуванню нейронів та вивільненню маркерного ферменту. Мексидол послаблює ці зв'язки (коефіцієнт кореляції не сягає вірогідного рівня та становить відповідно -0,56 та -0,17), проте формує сильний додатний зв'язок між зростанням  $pCO_2$  та активністю NSE ( $r = 0,77$ ,  $p < 0,05$ ). Адемолом зменшує його ( $r = 0,77$ ,  $p < 0,05$ ) та усуває від'ємний зв'язок між ВВ та NSE ( $r = 0,26$ ,  $p > 0,05$ ), а також ВЕ та NSE ( $r = 0,48$ ,  $p > 0,05$ ). Останнє свідчить, що адемолом ліпше за мексидолом захищає нейрони від руйнівного впливу ацидозу.

Всебічний огляд та вивчення доступної літератури дає змогу констатувати той факт, що при церебральному інсульті в утворенні ядра



ішемічного вогнища лежать механізми нейронекрозу. Поряд з цим, на периферії нервової тканини, за умови наявності мінімального мозкового кровотоку відбуваються процеси утворення зони ішемічної напівтіні (пенумбри), де превалює апаптоз нейроцитів (С. Charrimaut – Marlanguet et al., 2009; I. Chen et al., 2007; I. F. Belenichev et al., 2012;) Нейроапоптоз в зоні ішемії є найбільш оптимальним та впорядкованим процесом припинення життєдіяльності деструктивно змінених нейронів, при якому стабілізуються клітинні мембрани, вміст клітин утилізується шляхом утворення апоптотичних тілець та їх фагоцитозу без розвитку неконтрольованої запальної реакції (С. Charrimaut – Marlanguet et al., 2009; S. Okade et al., 2008; A. Marti, 2008). Гальмування ранніх механізмів нейроапоптозу в тих ділянках пенумбри, де підтримується мінімальне кровопостачання, є одним із можливих шляхів збереження їх подальшої життєздатності, оскільки апоптоз (до певного часу), на відміну від некрозу, є потенційно зворотнім процесом (И. Ф. Беленичев и др., 2010; Г. И. Губина – Вакулик, У. Ф. Фесенко, 2010).

Останнім часом з'явилась достатня кількість експериментальних даних, які вказують, що саме від співвідношення експресії генів раннього реагування *c-fos* та антиапоптотичних генів родини *bcl* у різні строки гострої церебральної ішемії залежить механізм і тип нейрональної смерті (Т. Т. Rohn et al., 2008; F. Lucibello et al., 2011;). При гістоімунохімічній оцінці динаміки експресії гену раннього реагування *c-fos* у сомато-сенсорній корі головного мозку щурів із ГПМК було встановлено, що на 4 добу після необоротної білатеральної оклюзії СА у нейроцитах спостерігалось вірогідне (більше ніж удвічі) зниження експресії гену *c-fos*, що може свідчити про переважання в осередку ішемії некротичного типу загибелі нейронів. На нашу думку, це пов'язано із відсутністю кровопостачання ішемічного вогнища, що обумовлює значний дефіцит макроергів, зменшення пулу АТФ та, як наслідок, початок некротичних змін (нейронекроз) в мозку. У той же час, у зоні ішемічної напівтіні (пенумбри) кровопостачання повністю не припиняється, а підтримується на мінімально необхідному для синтезу АТФ рівні, що і є

підґрунтям для подальшої ініціації апоптотичних програм. На думку дослідників (Е. Л. Ибрагимова, 2012; Т. Т. Rohn et al., 2008; S. S. Prasad et al., 2011) зазначені процеси інтенсифікуються не тільки на тлі ПОЛ, ОМБ та нітрозативного стресу, а також в умовах дисбалансу у експресії про- та антиапоптотичних генів (наприклад bcl-2 та гену раннього реагування c-fos) (Г. И. Губина -Вакулик, У. Ф. Фесенко, 2010; В. Favaloro et al., 2012;) Разом з цим, як у гострому, так і у відновному періодах ГПМК (відповідно 4 та 21 доба ішемії) відмічалось значне зниження bcl-2-позитивних нейронів відносно показника інтактних тварин, що може свідчити про активацію процесів нейроапоптозу в зоні пенумбри. Таким чином, при необоротній оклюзії СА у вогнищі ішемії в умовах майже повної відсутності синтезу АТФ переважають процеси некротичної загибелі нейронів, а в зоні пенумбри порівняно менший енергодефіцит сприяє ініціації механізмів нейроапоптозу.

Курсова 21-денна терапія щурів з ГПМК адемолом за рахунок модульовального впливу на експресію в нейронах кори головного мозку генів раннього реагування гальмує розширення ділянки ішемічного вогнища шляхом залучення до неї ще морфофункціонально спроможних нейронів пенумбри, «переключаючи» некротичний тип смерті нервових клітин на більш сприятливий апоптотичний не тільки у гострому періоді, а й упродовж усього терміну спостереження. Одночасно за рахунок стабільного впродовж усього терміну спостереження (як у ранньому, так і у відновному періоді) збільшується синтез антиапоптотичного білка bcl-2 переважно в зоні ішемічної напівтіні, що гальмує процеси нейроапоптозу і, як наслідок, зменшує її площу. Зазначена властивість адемолу, на наш погляд, є одним із провідних механізмів його цитопротекторної дії в умовах ГПМК.

Численні літературні дані свідчать, що в умовах гострої церебральної ішемії, нейроапоптоз, не зважаючи на відносне зменшення щільності клітин, для нервової тканини вважається більш сприятливим ніж некроз (Г.И. Губина-Вакулик, У. Ф. Фесенко, 2010; R. A. Knight, G. Melino, 2011;) Однак, на думку деяких дослідників, ГПМК, особливо у випадку реканалізації інфаркт-

залежної судини, апоптотична загибель клітин превалює над некротичною і явище апоптозу є виключно негативним, оскільки останній може індукувати всі фактори, які мають місце при вторинному ушкодженні нейронів. Тому основним напрямком цитопротекції можна вважати розробку та клінічне застосування препаратів, які здатні попереджати та гальмувати саме явища апоптозу (И. Ф. Беленичев и др., 2009;). Попередження цього різновиду клітинної смерті традиційно розглядається позитивно, і його селективне пригнічення може мати важливе значення для реалізації механізмів нейропротекції (О. П. Мошенська, 2011). Проте доведено, що якщо в клітині не є можливою реалізація апоптотичних програм, в ній виникають некротичні процеси, що є небажаним, оскільки останні сприяють ескалації ішемії за рахунок залучення до зони запалення нових нейронів (А. А. Мойбенко и др., 2008; С. Charriaut-Marlangue et al., 2009;). Отже, перспективним можна вважати пошук препаратів, які дозволяють одночасно гальмувати як запрограмовані, так і незапрограмовані шляхи клітинної смерті (А. А. Мойбенко и др., 2008; И. Ф. Беленичев и др., 2010).

Сучасний церебропротекторний засіб має забезпечувати захист головного мозку від постреперфузійних пошкоджень у випадку фармакологічної або механічної реканалізації інфаркт-залежної церебральної судини, особливо коли цей захід виконується поза межами терапевтичного вікна (наприклад, пізній тромболізис) (Y. Yuan et al., 2011; Z. Y. Li et al., 2012). Ця властивість може бути успішно реалізована, якщо потенційний церебропротектор в умовах ІР чинить антиапоптотичну дію.

Стратегія тестування перспективних нейропротекторів з метою прикриття тромболітичної терапії та нівелювання наслідків пізньої реканалізації інфаркт-залежної судини потребує удосконалення та деяких змін. По перше, необхідно створити експериментальну модель церебральної ішемії-реперфузії, яка б максимально віддзеркалювала ті зміни, які мають місце при формуванні постреперфузійного синдрому. По-друге, з'ясувати, як в цих умовах відбувається реалізація різних типів клітинної смерті

(нейроапоптоз та нейронекроз). З'ясування останнього питання дозволить робити цілеспрямований відбір нових сполук для глибокого вивчення можливих механізмів їх церебропротекторної дії. Особливого стратегічного значення це набуває у випадку, коли такі речовини володіють впливом на перші етапи «ішемічного каскаду», що дозволяє передбачити наявність у них модульовального впливу на перебіг різних типів нейрональної смерті у постреперфузійному періоді інсульту.

Використовуючи метод протокової цитометрії, який дозволяє дослідити рівень фрагментації ДНК в ядрах кортикальних нейронів, що є маркером нейроапоптозу, з паралельною оцінкою показника нейродеструктивних процесів (активність NSE), нами встановлено, що 20-ти хвилинна ішемія з наступним відновленням кровотоку в басейні внутрішньої СА поряд з одночасним послабленням некротичних процесів в тканинах головного мозку супроводжується активацією нейроапоптозу. Патологічно індукований апоптоз є підґрунтям до вторинного ушкодження нейронів. Саме цим можна пояснити негативні результати та ускладнення, які супроводжують пізній тромболізис. Наявність у сучасного нейропротекторного засобу властивостей, які сприяють розширенню меж терапевтичного вікна, що дає змогу профілактувати постреперфузійні ускладнення, є бажаними і співпадає з точкою зору провідних фахівців [В.Н.Черний и др., 2008; З.А.Суслина, М.А.Пирадова 2009; А.А.Скоромец и др., 2007].

У ході проведених нами досліджень встановлено, що адемолу (подібно до цитиколіну) притаманна подібна дія. Так, лікувальне курсове введення адемолу, так само як і референс-препарату, сприяло достовірному відносно контролю зменшенню інтенсивності фрагментації ДНК в ядрах нейронів лобних часток кори головного мозку у досліджуваному періоді.

Отже, спроможність адемолу зменшувати фрагментацію ДНК у нейронах, тобто чинити антиапоптотичну дію, може бути одним із механізмів його церебропротекторної дії при постреперфузійних ушкодженнях головного мозку.

Зважаючи на комплекс встановлених нами механізмів захисного впливу адемолу на ішемізований головний мозок, є всі підстави вважати що вказана речовина має ознаки первинного нейроцитопротекторного засобу, який може бути основою для створення нового лікарського засобу із зазначеною дією.

Аналізуючи результати проведених досліджень на різних моделях експериментального інсульту, на наш погляд, максимальна клінічна ефективність адемолу може бути досягнута за умови його раннього введення в межах терапевтичного вікна з наступним застосуванням упродовж усього відновного періоду після судинно-мозкової катастрофи.

Захисний ефект вказаної сполуки на ішемізований мозок обумовлений комплексом вище наведених фармакологічних властивостей, які узагальнено на рис. 8.1.



Рис. 8.1. Спрямованість церебропротекторної дії адемолу (схема)

Таким чином, в ході проведених досліджень розроблений новий підхід до фармакотерапії ішемічного інсульту шляхом застосування адемолу (1-адамантилетилокси- 3-морфоліно- 2 –пропанолу гідрохлориду) – оригінального церебропротекторного засобу з принципово новим модульованим впливом на активність глутаматергічних рецепторів, зокрема здатність викликати швидку “блокаду/ деблокаду” NMDA – рецепторно-іонофорного комплексу. Завдяки цим властивостям адемолу, на відмінну від прямих блокаторів, спроможний селективно знімати надлишкову активність вказаних рецепторів, послаблюючи, таким чином нейродистрофічні процеси в ішемізованому мозку. За величиною церебропротекторного ефекту в модельних дослідках на щурах та гербелах адемолу виявився конкурентоспроможним з цитиколіном.

За сукупністю фармакологічних ефектів адемолу може бути віднесений до церебропротекторних засобів нового покоління.

Наявність у адемолу інших цінних фармакологічних ефектів – ноотропного, актопротекторного, нейроретинопротекторного та захисної дії на ішемізоване серце – розширює перспективи його клінічного застосування.

## ВИСНОВКИ

В монографії наведене теоретичне узагальнення та експериментальне вирішення актуальної проблеми фармакології – оптимізація фармакотерапії порушень мозкового кровотоку шляхом застосування модулятора NMDA-рецепторів адемолу (1 – адамантилетилокси- 3-морфоліно- 2 –пропанолу гідрохлориду, ЮК-1).

1. Нові похідні адамантану є носіями церебропротекторної активності, яка в найбільшій мірі притаманна 1 – адамантилетилокси- 3-морфоліно- 2 –пропанолу гідрохлориду (адемолу). Останній, на відміну від ЮК-4, ЮК-67, ЮК-70 та ЮК-76, має властивості активатора NMDA-рецепторно-іонофорного комплексу пірамідних нейронів гіпокампа із швидкою блокадою/деблокадою NMDA-рецепторів.

2. Характеризуючи залежність "структура-дія", можна зазначити, що величина захисного ефекту досліджуваних адамантанів на ішемізований мозок залежить від структури аміногрупи. Так, наявність тут морфоліну (ЮК-1, адемол) забезпечує найбільший ступінь церебропротекції. Четвертинна сіль ЮК – 67, яка на відміну від ЮК-1 (адемолу) замість морфоліну містить піролідін, проявляла достатньо виразний церебропротекторний ефект, хоча і менший, ніж у адемолу. Введення в алоксигрупу 1-адамантильного радикалу, а в якості амінного фрагменту діетиламін, який кватернізовано йодистим метилом (сполука ЮК-70), також проявилось значним церебропротекторним ефектом, хоча і меншим за величиною, ніж у ЮК-1 (адемолу).

3. У монгольських піщанок із моделлю гострої церебральної ішемії за курсового лікувального введення адемолу (2 мг/кг, в/о) подібно до цитиколіну (250 мг/кг, в/о) створює стовідсотковий захист головного мозку гербел в умовах гострого порушення мозкового кровообігу упродовж перших 8 год проти 60,0 % у групі контрольної патології. За спроможністю підвищувати виживаність щурів з БКО впродовж 96 год спостереження адемол переважає мексидол (100 мг/кг, в/о), цитиколін

(250 мг/кг, в/о), актовегін (16 мг/кг, в/о) та пірацетам (400 мг/кг, в/о).

4. Адемол (2 мг/кг) покращує кровообіг в каротидному басейні на рівні вінпоцетину (5 мг/кг) не тільки в умовах наркозу, а й при гострому порушенні мозкового кровообігу у щурів. Експериментальна курсова терапія щурів адемолом (2 мг/кг, в/о) ліпше, ніж цитиколін (250 мг/кг), зменшує виразність неврологічних порушень, що супроводжується покращанням мнестичних функцій у тварин із гострим порушенням мозкового кровообігу на 21-шу добу експерименту.

5. Лікувальне введення щурам з моделлю ГПМК адемолу, як і мексидолу (100 мг/кг), зменшує нейродеструктивні процеси в ішемізованому головному мозку, про що свідчить вірогідне зниження на 4-ту добу ішемії активності нейронспецифічної енолази в крові відносно групи контрольної патології у середньому відповідно в 2,2 та 1,7 рази ( $p < 0,05$ ).

6. Терапія адемолом щурів з модельним ішемічним інсультом ліпше за цитиколін протидіє зменшенню у сомато-сенсорній корі головного мозку щурів на 4-ту добу гострого порушення мозкового кровообігу площі тіл нейронів та вмісту в них нуклеїнових кислот у середньому на 7,3 та 13,4 %, переважаючи референс-препарат цитиколін за здатністю зменшувати щільність деструктивно-змінених нейронів.

7. Біохімічні складові механізму церебропротекторної дії адемолу при гострій церебральній ішемії характеризуються відновленням енергопостачання головного мозку (збільшення вмісту АТФ, малату та пірувату), зменшенням в ньому вмісту лактату та усуненням декомпенсованого метаболічного ацидозу (нормалізація рН крові, що відтікає від мозку, та інших показників кислотно-лужної рівноваги), коригувальним впливом на активність NOS та вміст стабільних метаболітів монооксиду азоту, зниженням інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів і окисної модифікації білків, активацією ферментативної ланки антиоксидантного захисту мозку



(супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза). За цими властивостями адемола вірогідно перевершує цитиколін та мексидол.

8. В умовах гострого порушення мозкового кровообігу адемола чинить модулювальний вплив на експресію в головному мозку генів раннього реагування c-fos та bcl-2, що гальмує експансію ділянки тотальної ішемії, «переключаючи» некротичний тип смерті нейронів на більш сприятливий апоптотичний, що дозволяє зберегти цитоархітектоніку тканини. У постреперфузійному періоді гострої церебральної ішемії адемола краще за цитиколін (у середньому на 14,5 %,  $p < 0,05$ ) зменшує інтенсивність фрагментації ДНК (маркеру нейроапоптозу) в ядрах кортикальних нейронів, що свідчить про антиапоптотичні властивості досліджуваного адамантану.

9. Комплексний механізм церебропротекторної дії адемола в умовах гострого порушення мозкового кровообігу пов'язаний з модулювальним впливом на активність NMDA- рецепторів, стимуляцією кровопостачання головного мозку, усуненням енергодефіциту, метаболічного ацидозу, оксидативного ушкодження нейронів, коригувальним впливом на обмін монооксиду азоту в мозку, наявністю протигіпоксичного ефекту.

10. Адемола, в такій же мірі як і бемітилу, притаманна властивість підсилювати фізичну витривалість організму, Механізм актопротекторного ефекту адемола пов'язаний із здатністю покращувати енергетичні процеси в печінці та скелетних м'язах, наявністю протигіпоксичного та мембраностабілізуючого ефектів.

11. Адемола володіє нейроретинопротекторним ефектом, про що свідчить вірогідне зменшення активності NSE в крові щурів з моделлю ішемії-реперфузії ока на тлі лікувального введення вказаної сполуки.

12. Адемола володіє ноотропною активністю, за величиною якої він конкурентоспроможний з пірацетамом (100 – 250 мг/кг).



## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антиоксидантная терапия при ишемическом инсульте / В. А. Яворская, О. Б. Бондарь, Е. А. Ибрагимова [и др.] // Міжнар. неврол. журн. – 2010. – № 3 (33). – С. 105–111.
2. Баринов А. Н. Роль окислительного стресса в заболеваниях нервной системы – пути коррекции / А. Н. Баринов // Трудный пациент. – 2012. – Т. 10, № 1. – С. 10–13.
3. Башкін І. М. Фармакологічна корекція обмінних процесів при ішемії головного мозку. Експериментально-клінічне дослідження : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук : спец. 14.03.05 фармакологія / І. М. Башкін. – Київ, 1994. – 28 с.
4. Беленичев И. Ф. Возможная роль HSP-белков в реализации энерготропного механизма нейропротекторного действия цереброкурина / И. Ф. Беленичев, С. В. Павлов // Нейронауки: теорет. та клініч. аспекти. – 2010. – Т. 6, № 1. – С. 31–36.
5. Беленичев И. Ф. Механизм энерготропного и антиоксидантного действия тиотриазолина / И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, М. А. Волошин // Клинич. фармакологія. – 2008. – № 13/14. – С. 10–12.
6. Беленичев И. Ф. Механизмы формирования ишемической нейродеструкции: соотношение оксида азота и тиол-дисульфидной системы как фактор определяющий тип гибели нейрона / И. Ф. Беленичев, С. В. Павлов, Н. В. Бухтиярова // Нейронауки: теорет. та клініч. аспекти. – 2010. – Т. 6, № 2. – С. 20–27.
7. Беленічев І. Ф. Гостра токсичність, антиоксидантна та ранозагоююча активність похідних хіназоліну та хіноліну / І. Ф. Беленічев, С. І. Коваленко, О. А. Бражко // Вісн. Запоріз. держ. ун-ту. – 2001. – № 1. – С. 143–147.
8. Беленичев И. Ф. Нейропротекторная активность модуляторов тиол-дисульфидной системы в условиях моделирования глутаматной

эксайтотоксичности *in vitro* / И. Ф.Беленичев, Е. С. Литвиненко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2017. - № 4–5 (55). – С. 20-26.

9. Бемитил (*bemitylum*) – антигипоксанти, актопротектор: фармакологические эффекты и клиническое применение в медицине : информ. бюл. / Э. С. Питкевич, М. О. Лозинский, А. Н. Лызинов [и др.]. – Киев, 2001. – 44 с.

10. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – Москва : Высш. шк., 1991. – 400 с.

11. Виленский Б. С. Современная тактика борьбы с инсультом / Б. С. Виленский. – Санкт-Петербург : Фолиант, 2005. – 283 с.

12. Віничук С. М. Гострий ішемічний інсульт / С. М. Віничук, М. М. Прокопів. – Київ : Наук. думка, 2006. – 286 с.

13. Влияние вазонита на структурно-функциональное состояние мембраны эритроцита у пациентов с ишемическим инсультом / Л.А. Белова, В.В. Машин, А.Н. Прошин, В.В. Костичко // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. — 2015. — № 115(3), вып. 2. — С. 83-85.

14. Войткова В. В. Изучение апоптоза методом проточной цитофлуориметрии : (обзор лит.) / В. В. Войткова // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 6 (76), ч. 1. – С. 220–225.

15. Воронина Т. А. Ноотропные препараты, достижения и новые проблемы : (проблем. ст.) / Т. А. Воронина, С. Б. Серединин // Эксперим. и клинич. фармакология. – 1998. – Т. 61, № 4. – С. 3–9.

16. Гацура В. В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В. В. Гацура. – Москва : Медицина, 1974. – 143 с.

17. Гмиро В. Е. Поиск избирательных блокаторов NMDA и AMPA/каинатных рецепторов в ряду бис-аммониевых соединений с адамантильными радикалами / В. Е. Гмиро, С. Е. Сердюк // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2000. – Т. 63, № 1. – С. 7–13.

18. Гмиро В. Е. Сравнительная оценка антиамнестических свойств «быстрых» блокаторов NMDA-рецепторов и полиаминов / В. Е. Гмиро, А. В. Журавський, И. В. Комиссаров // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2002. – Т. 65, № 1. – С. 11–14.
19. Григорьев Е. В. Нейроспецифические белки-маркеры энцефалопатии при тяжелой сочетанной травме / Е. В. Григорьев, Г. В. Вавин // Медицина неотложных состояний. – 2010. – № 2 (27). – С. 72–76.
20. Губина-Вакулик Г.И. Морфологическая оценка действия кетамина и нейропротекторных свойств пирацетама и сульфата магния на кортикальные нейроны у крыс / Г. И. Губина-Вакулик, У. А. Фесенко // Эксперим. і клініч. медицина. - 2010. - N 1. - С. 50-56.
21. Гуляев Д.В. Нейрозащитное лечение при инсульте: реалии и перспективы // Therapia. — 2007. — № 2. — С. 47-51. 11.
22. Гусев Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. – Москва : Медицина, 2001. – 327 с.
23. Дев'яткіна Т. О. До питання про місце стреспротекторів у сучасній фармакології / Т. О. Дев'яткіна, О. М. Важнича // Фармакологія 2006 – крок у майбутнє : III Нац. з'їзд фармакологів України, (Одеса, 17–20 жовт. 2006 р.). – Одеса, 2006. – С. 51.
24. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов : метод. рекомендации / И. С. Чекман, Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев [и др.]. – Киев, 2010. – 81 с.
25. Евтушенко И. С. Ноотропы и нейропротекторы в современной клинической нейрофармакологии / И. С.Евтушенко // Міжнародний неврологічний журнал. - 2013. - № 3. - С. 20-27
26. Експериментальні моделі ішемії головного мозку у фармакологічних дослідженнях / І. Ф. Беленічев, С. В. Горбачова, Н. В. Бухтіярова [та ін.] // Ліки. – 2006. – № 3/4. – С. 11–19.
27. Журавский А. В. Оценка эффективности адамантилсодержащих полиаминов при общей ишемии головного мозга у

крыс / А. В. Журавский // Архив клинич. и эксперим. медицины. – 2005. – Т. 14, № 1. – С. 13–16.

28. Зарубина И. В. Молекулярная фармакология антигипоксантов / И. В. Зарубина, П. Д. Шабанов. – Санкт-Петербург : Издательство Н-Л, 2004. – 361 с.

29. Зозуля І. С. Епідеміологія цереброваскулярних захворювань в Україні / І. С. Зозуля, А. І. Зозуля // Укр. мед. часопис. – 2011. – № 5. – С. 38–41.

30. Ибрагимова Е. Л. Патоморфологическая характеристика ишемических инсультов в вертебробазиллярном и каротидном бассейне / Е. Л. Ибрагимова // Медицина неотлож. состояний. – 2012. – № 1 (40). – С. 106–110.

31. Карзин А.В. Особенности инфузионной терапии при острых заболеваниях и повреждениях головного мозга, сопровождающихся внутричерепными кровоизлияниями: дис. ... кандидата мед. наук : 14.00.37; 14.00.28 / Карзин Алексей Владимирович. - М., 2003. - 129 с

32. Каюмов У. К. Новые перспективы применения тиотриазолина в общей врачебной практике / У. К. Каюмов // Запорож. мед. журн. – 2009. – Т. 12, № 5. – С. 34–36.

33. Киричек Л. Т. Экспериментальное обоснование применения нейротропных средств при иммобилизации : автореф. дис. на соиск. науч. степени канд. мед. наук : спец. 14.00.25 «Фармакология» / Л. Т. Киричок. – Киев, 1989. – 37 с.

34. Китаева З. А. Нейропротективная терапия у больных с полушарным ишемическим инсультом / З. А. Китаева, М. В. Сайхунов, Д. Р. Хасанова // Казан. мед. журн. – 2009. – № 5 – С. 671–675.

35. Колесник В. В. Експериментальний тромбоемболічний інсульт у щурів лінії Вістар варіант патофізіологічної моделі гострих порушень мікроциркуляції за ішемічним типом / В. В. Колесник // Патологія. – 2011. – Т. 8, № 1. – С. 56–59.

36. Комиссаров И. В. Коррекция лигандами глутаматных рецепторов нарушений мнестических функций при экспериментальной фокальной ишемии коры мозга / И. В. Комиссаров, А. В. Журавський, В. Е. Гмиро // Журн. АМН України. – 2003. – Т. 9, № 2. – С. 238–249.

37. Кондратьев А. Н. Неотложная нейротравматология / А. Н. Кондратьев. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 192 с.

38. Королев А. А. Динамика восстановления больных в зависимости от тяжести неврологических нарушений в процессе реабилитационного лечения / А. А. Королев, Г. А. Сулова // Невролог. вестн. – 2009. – Т. 41, вып. 2. – С. 15–19.

39. Кортексин: новые возможности в лечении ишемического инсульта / А. А. Скоромец, Л. В. Стаховская, А. А. Белкин [и др.] // Нейропротекция при острой и хронической недостаточности мозгового кровообращения. – Санкт-Петербург : Наука, 2007. – С. 7–16.

40. Круглікова Г. О. Глутатіонпероксидазна та глутатіонредуктазна активність печінки після введення селеніту натрію / Г. О. Круглікова, І. М. Штурман // Укр. біохім. журн. – 1976. – Т. 48, № 2. – С. 223–228.

41. Кукоба Т. В. Участь монооксиду вуглецю у регуляції кардіогемодинаміки щурів з експериментальним діабетом / Т. В. Кукоба, О. О. Мойбенко, М. В. Кришталь // Клініч. та екперим. патологія. – 2003. – № 1. – С. 22–26.

42. Курочка А. В. Влияние производных адамантана на восстановление физической работоспособности после острой интоксикации хлорофосом / А. В. Курочка, А. С. Лосев, А. И. Елькин // XII Рос. нац. конгресс «Человек и лекарство» : тез. докл. – Москва, 2005. – С. 676.

43. Кушнир Г.М. Комбинация ноотропов в лечении ранней цереброваскулярной патологии / Г.М.Кушнир, А.А. Микляев // Укр. вісн. психоневрол. — 2007. — Т. 15, вип. 3. — С. 13-15. 37.

44. Лабораторне методи дослідження в клініці / В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторська, Р. П. Золотницька [і др.] ; ред. В. В. Меньшиков. – Москва : Медицина, 1987. – 253 с.

45. Левина М. И. Психотропні ефекти сидрокарба і ладастена у інбредних мишей з реакцією на емоціональний стрес / М. И. Левина // Бюл. експерим. біології і медицини. – 2005. – Т. 139, № 3. – С. 316–318.

46. Лонська О. П. Експериментальні дослідження актопротекторної активності нових похідних адамантанів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія» / О. П. Лонська ; Одес. держ. мед. ун-т. – Одеса, 2008. – 26 с.

47. Лук'янчук В. Д. Актопротектори: фармакологія та фармакотерапія / В. Д. Лук'янчук, І. В. Сімонова // Фармакологія та лікар. токсикологія. – 2015. – № 2. – С. 14–26.

48. Лутошкина Е. Б. Опыт коррекции когнитивных нарушений кортексином и мексидолом в комплексном лечении больных с последствиями инфаркта головного мозга / Е. Б. Лутошкина, Е. А. Сапина, И. И. Шоломов // Невролог. вестн. – 2009. – Т. 61, вып. 1. – С. 16–19.

49. Мамчур В.Й. Церебропротекция: возможности медикаментозной защиты ишемизированного мозга / В. Й. Мамчур, С. Н. Дронов, В. И. Жилюк // Рациональна фармакотерапія. – 2008. - №3. – С. 1-7.

50. Маньковский Б. Н. Профилактика и лечение диабетической ретинопатии: какие средства на сегодняшний день существуют в арсенале врачей / Б. Н. Маньковский, Л. М. Литвинчук, Т. Н. Мищенко // Здоровья України. - 2014. - Червень. - С. 14-15

51. Матвеева Н. Ю. Нейрохимическая специализация нейронов сетчатки / Н. Ю. Матвеева // Тихоокеан. мед. журн. – 2012. – № 2. – С. 66–70.

52. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – 16-е изд., перераб., испр. и доп. – Москва : Новая Волна, 2012. – 1216 с.



53. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / ред. М. И. Прохорова. – Ленинград : Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. – 272 с.

54. Митохондриальная дисфункция при церебральной патологии. Нейропротекция цереброкурином / И. Ф. Беленичев, Ю. М. Колесник, С. В. Павлов [и др.] // Междунар. неврол. журн. – 2008. – № 4 (20). – С. 23–29.

55. Міщенко О. Я. Експериментальне вивчення впливу нового адаптивного засобу «Поллентар» на витривалість щурів / О. Я. Міщенко, Л. В. Яковлєва, М. В. Лелека // Мед. хімія. – 2002. – Т. 4, № 4. – С. 48–51.

56. Міщенко Т.С. Асимптомні інфаркти головного мозку у хворих з артеріальною гіпертензією (клініко-патогенетичні особливості формування, фактори ризику, профілактика) / Т.С. Мищенко, О.В. Дмитрієва, І.В. Здесенко та ін. // Наукові засади програми профілактики і лікування артеріальної гіпертензії в Україні. — К., 2010. — С. 141-155.

57. Метаболитотропные препараты [Текст] / И. А. Мазур, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев [и др.]. - Запорожье : 2007. - 304 с.

58. Модулирующее действие производного 3,2'-спиро-пирроло-2-оксиндола на формирование стероидной нейротоксичности, кардиоцеребральной дисфункции и течение нейроапоптоза в условиях экспериментального ишемического инсульта / И. А. Петрик, О. В. Ходаковская, С. Ю. Шриголь [и др.] // Врач-апирант. – 2014. – № 6 (67). – С. 44–53.

59. Мойбенко А. А. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца / А. А. Мойбенко, В. Е. Досенко, А. Н. Пархоменко. – Киев : Наук. думка, 2008. – 514 с.

60. Морозов И. С. Актопротекторные и адаптогенные свойства производных адамантана : (обзор) / И. С. Морозов, И. А. Иванова, Т. А. Лукичова // Химико-фармацевт. журн. – 2001. – Т. 35, № 5. – С. 36.

61. Мохан Р. Биохимия мышечной деятельности и физической тренировки / Р. Мохан, М. Глессон, П. Л. Гринхафф. – Киев : Олимп. лит., 2001. – 296 с.
62. Мошарова И. В. Типы глутаматных рецепторов и их роль в осуществлении синаптической передачи / И. В. Мошарова // Нейрохимия. – 2002. – Т. 18, № 1. – С. 3–18.
63. Мошенська О. П. Фатальний ішемічний інсульт: особливості найгострішого періоду / О. П. Мошенська // Укр. мед. часопис. – 2011. – № 1 (81). – С. 95–100.
64. Надлежащая производственная практика лекарственных средств / ред. Н. А. Ляпунов. – Киев : МОРИОН, 1999. – С. 508–545.
65. Нейронспецифические белки – маркеры энцефалопатии при тяжелой сочетанной травме / Е. В. Григорьев, Г. В. Вавин, Т. Г. Гришанова [и др.] // Медицина неотлож. состояний. – 2010. – № 2 (27). – С. 72–76.
66. Нейропротекция и нейропластичность / И. Ф. Беленичев, В. И. Черний, Е. А. Нагорная [и др.]. – Киев : Логос, 2015. – 510 с.
67. Никонов В. В. Роль антагонистов глутаматных рецепторов (ПК-Мерц) в лечении повреждений мозга : (обзор лит.) / В. В. Никонов, И. Б. Савицкая // Медицина неотлож. состояний. – 2012. – № 5 (44). – С. 36–40.
68. Никонов В.В. Сравнительная эффективность цитиколинов в лечении острого ишемического инсульта / В.В. Никонов // Международный неврологический журнал. – 2012. - №3 (49). Режим доступа до журналу <http://www.mif-ua.com/archive/article/29712>
69. Сергеев С. В. Ноотропні властивості нових похідних адамантану / С. В. Сергеев, Г. І. Степанюк, Л. О. Громов [та ін.] // Ліки. – 2005. – № 3/4. – С. 94-98.
70. Окислительный стресс у больных с мозговым инсультом / М. Ю. Мартынов, А. Н. Ясаманова, Т. И. Колесникова [и др.] // Consilium Medicum. – 2010. – № 2. – С. 14–17.

71. Опыт нейропротекции при терапии ишемического и геморрагического инсультов / А. П. Скороходов, В. В. Белинская, Е. А. Колесникова [и др.] // Нейропротекция при острой и хронической недостаточности мозгового кровообращения. – Санкт-Петербург : Наука, 2007. – С. 17–30.

72. Основні принципи діагностики, формування діагнозу, лікування та профілактики мозкового інсульту [Електронний ресурс] / І. С. Зозуля, Ю. І. Головченко, А. І. Зозуля [та ін.] // Укр. мед. часопис. – 2015. – № 5 (109). –Режим доступу: <https://www.umj.com.ua/article/89608/osnovni-principi-diagnostiki-formuvannya-diagnozu-likuvannya-ta-profilaktiki-mozkovogo-insultu>

73. Острая церебральная недостаточность / В. И. Черний, В. Н. Ельский, Г. А. Городник [и др.]. – Донецк : Заславский А. Ю., 2008. – 439 с.

74. 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.

75. Пат. 106032 Україна, МПК (2014.01) С 07 С 13/615 (2006.01). Фармацевтична композиція 1-адамантилетокси-3-діетиламіно-2-пропанол гідрохлорид або його фармацевтично прийнятних солей для створення лікарських засобів для лікування цереброваскулярної патології / Г. В. Загорій, Ходаківський О. А. ; заявник та патентовласник Г. В. Загорій. – № 106032 ; заявл. 24.12.2013 ; опубл. 10.07.2014, Бюл. № 13. – 4 с.

76. Пат. 23451 Україна, МПК А 61 К 31/074, А 61 К 31/535. Засіб для лікування порушень пам'яті / Зайцев Л. М., Короткий Ю. В., Красавцев І. І. [та ін.] ; заявник та патентовласник Ін-т органічної хімії НАН України. – № 94063487 ; заявл. 16.06.1994 ; опубл. 29.12.1999, Бюл. № 8.

77. Пат. 53558 А Україна, МПК 7 А 61 К 9/08, А 61 К 31/535. Засіб для лікування слабості пологової діяльності (Адемомл) / Короткий Ю. В., Лозинський М. О., Ципкун А. Г., Загорій В. А. ; заявник та патентовласник

Ін-т органічної хімії НАН України. – № 2002075956 ; заявл. 18.07.2002 ; опубл. 15.01.2003, Бюл. № 1.

78. Пат. 58841 Україна, МПК 7 А 61 К 31/075, А 61 К 31/535. 1-адамантилетилокси-3-діалкіламіно-2-пропанол гідрохлориди, які виявляють ноотропну дію / Короткий Ю. В., Лозинський М. О., Степанюк Г. І., Волощук Н. І. [та ін.] ; заявник та патентовласник Ін-т органічної хімії НАН України. – № 2002118876 ; заявл. 08.11.2002 ; опубл. 15.08.2003, Бюл. № 8.

79. Пискунов А. К. Биомаркеры нейровоспаления / А. К. Пискунов // Нейрохимия. – 2010. – Т. 27, № 1. – С. 63–73.

80. Побережець О. Л. Вплив вінборону на процеси пам'яті у щурів з експериментальною ішемією головного мозку / О. Л. Побережець, Г. І. Степанюк, Д. С. Пак // Вісник Вінниць. нац. мед. ун-ту. – 2007. – Т. 11, № 2, ч. 1. – С. 517-520.

81. По материалам Европейских симпозиумов 2008 г., посвященных использованию церебролизина // Невролог. вестн. – 2009. – Т. 41, вып. 1. – С. 69–73.

82. Повреждение головного мозга при тяжелой травме: значимость клинических шкал и нейрональных маркеров / Т. Г. Гришанова, А. В. Будаев, Е. В. Григорьев [и др.] // Медицина неотлож. состояний. – 2011. – № 1/2 (32/33). – С. 86–90.

83. Поиск и изучение новых химических соединений, повышающих физическую работоспособность : автореф. дис. на соискание науч. степени д-ра мед. наук : спец. 14.00.25 фармакология / Е. Н. Стратиенко ; Брян. гос. ун-т. – Москва, 2003. – 34 с.

84. Посібник до лабораторних та семінарських занять з біологічної хімії : навч.-метод. посіб. для вузів / Л. М. Воронина, В. Ф. Денесенко, В. М. Кравченко, Т. С. Сахарова. – Харків : Основа, 1996. – 432 с.

85. Пошук і експериментальне вивчення потенційних протигіпоксичних засобів : метод. рекомендації / В. Д. Лук'янчук, Л. В. Савченкова, О. Д. Немятих, В. М. Радіонов. – Київ, 2002. – 28 с.
86. Рациональная нейропротекция / И. Ф. Беленичев, В. И. Черный, Ю. М. Колесник [и др.]. – Донецк : Заславский А. Ю., 2009. – 262 с.
87. Риков С. О. Захворюваність на хвороби ока та його придаткового апарату, їх поширеність серед населення України / С. О. Риков, В. А. Васюта // Україна. Здоров'я нації. – 2011. – № 4. – С. 7–11.
88. Роль гена раннего реагирования c-fos в норме и в нейродеструктивной токсической патологии. Возможности фармакокоррекции нейропептидными лекарственными средствами / И. Ф. Беленичев, Е. Л. Левицкий, С. В. Павлов [и др.] // Современ. проблемы токсикологии. – 2008. – № 1. – С. 17–27.
89. Сазонтова Т. Г. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма / Т. Г. Сазонтова, Ю. В. Архипенко // Патолог. физиология и эксперим. терапия. – 2007. – № 3. – С. 2–18.
90. Салій М. І. Лакунарний інсульт: актуальність, проблематика та деякі клінічні особливості / М. І. Салій // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. - 2014. - № 1. - С. 104-108
91. Сейфулла Р. Д. Допинг в спорте / Р. Д. Сейфулла, Е. Д. Рожкова, Г. М. Родченков // Спортив. медицина. – 2009. – № 1/2. – С. 86–90.
92. Сейфулла Р. Д. Фармакологическая коррекция факторов, лимитирующих работоспособность человека / Р. Д. Сейфулла // Эксперим. и клинич. фармакология. – 1998. – Т. 61, № 1. – С. 3–12.
93. Синтез и утеростимулирующая активность производных 1-диалкиламино-3-алкокси-2-пропанола / Л. М. Зайцев, Ю. В. Короткий, И. И. Красавцев [и др.] // Химико-фармацевт. журн. – 1991. – № 7. – С. 51–54.

94. Синтез, гостра токсичність та ноотропна активність похідних 1-адамантилетилокси-3-діалкіламіно-2-пропанолу / Ю. В. Короткий, М. О. Лозинський, Г. І. Степанюк [та ін.] // Фізіол.-актив. речовини. – 2002. – № 2 (34). – С. 4–8.
95. Сич Н. С. Чинники ризику та характер когнітивних порушень в осіб з різними підтипами інфаркту мозку в гострому періоді / Н. С. Сич, В. І. Боброва, І. С. Зозуля // Буковин. мед. вісн. – 2009. – Т. 13, № 4. – С. 247–249.
96. Скворцова В. И. Нейропротективная терапия ишемического инсульта / В. И. Скворцова // Врач. – 2004. – № 6. – С. 26–32.
97. Скворцова В.И. Нейропротективная терапия в остром периоде церебрального инсульта / В.И. Скворцова, А.В. Боцина // Врач. — 2007. — №12. — 25-28.
98. Скринінг актопротекторної дії нових похідних адамантану / О. П. Лонська, Г. І. Степанюк, Ю. В. Короткий [та ін.] // Biomedical and Biosocial Anthropoloy. – 2007. – № 9. – С. 134–137.
99. Смирнов А. В. Бемитил: механизм действия и связанные с ним эффекты / А. В. Смирнов // Физиологически активные вещества. – 1993. – № 25. – С. 5–8.
100. Соловьева Э. Ю. Применение низкочастотного лазерного излучения и антиоксидантной терапии в лечении хронической ишемии головного мозга // Э. Ю. Соловьева, О. П. Миронова, О. А. Баранова // Невролог. вестн. – 2009. – Т. 41, вып. 2. – С. 59–65.
101. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Г. Г. Гаришвили // Современ. методы в биохимии / под ред. В. И. Ореховича. – Москва, 1977. – С. 57–59.
102. Статус антиоксидантной и прооксидантной систем при остром ишемическом инсульте, отягощенном и неотягощенном сахарным диабетом / Г. В. Цаканова, В. А. Айвазян, А. С. Бояджян [и др.] // Мед.

наука Армении. – 2010. – № 50 (1). – С. 74–78.

103. Степанюк Г. І. Вплив експериментальної терапії 4-[оксо-3(4Н)-хіназолін]бензойної кислоти (ПК-66) і вінпоцетином на мозкову гемодинаміку та активність нейродеструктивних процесів в головному мозку при його глобальній ішемії / Г. І. Степанюк, О. А. Ходаківський, О. Л. Церковнюк // *Biomedical and biosocial anthropology*. – 2009. – № 12. – С. 132–136.

104. Суслина З. А. Инсульт: диагностика, лечение, профилактика / З. А. Суслина, М. А. Пирадова. – Москва : Медпресс-информ, 2009. – 281 с.

105. Терапевтична ефективність вінборону при гострому порушенні мозкового кровообігу в експерименті / Г. І. Степанюк, О. В. Дякова, Н. І. Волощук [та ін.] // *Ліки*. – 2002. – № 5/6. – С. 59–62.

106. Ткаченко О. В. Ішемічний інсульт: прогностичні аспекти клінічних, лабораторних та нейровізуальних характеристик / О. В. Ткаченко, І. О. Цьоха. – Донецьк : Заславський О. Ю., 2012. – 112 с.

107. Транзиторные ишемические атаки в клинической практике: принципы диагностики и неотложной помощи / В. А. Яворская, Ю. В. Фломин, А. В. Гребенюк [и др.] // *Здоров'я України*. – 2006. – № 1 (Дод.). – С. 19.

108. Трещинская М. А. Антиэджинговий ефект L-аргініна / М. А. Трещинская // *Медицина неотлож. состояний*. – 2012. – № 3 (42). – С. 50–57.

109. Фармакологическая коррекция утомления / Ю. Г. Бобков, В. М. Виноградов, В. Ф. Катков [и др.]. – Москва : Медицина, 1984. – 208 с.

110. Фармакологическая коррекция физической работоспособности / под ред. Н. Н. Самойлова. – Москва : Зеркало, 2002. – 120 с.

111. Фармакологические и токсикологические свойства производных адамантана : (обзор) / А. А. Спасов, Т. В. Хамидова, Л. И. Бугаева, И. С. Морозов // *Химико-фармацевт. журн.* – 2000. – Т. 34, №

1. – С. 3–9.

112. Фармакологія спорту / под ред. С. А. Олейник, Л. М. Гуниной, Р. Д. Сейфула. – Киев : Олимп. лит., 2010. – 638 с.

113. Ходаківський О. А. Вплив адемолу на показники енергетичного обміну в головному мозку щурів із моделлю гострої церебральної ішемії / О. А. Ходаківський // Буковин. мед. вісн. – 2013. – Т. 17, № 2 (66). – С. 140–143.

114. Ходаківський О. А. Вплив адемолу на стан оксидантно-антиоксидантного балансу в головному мозку щурів із моделлю гострої церебральної ішемії / О. А. Ходаківський // Питання експерим. та клініч. медицини. – 2013. – Вип. 17, т. 1. – С. 123–127.

115. Ходаківський О. А. Вплив курсової експериментальної терапії адемолом (сполукою ЮК-1) на динаміку показників кислотно-лужної рівноваги в ішемізованому головному мозку / О. А. Ходаківський // Вісн. морфології. – 2010. – Т. 16, № 4. – С. 787–790.

116. 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 // Укр. вісн. психоневрології. – 2013. – Т. 21, вип. 1 (74). – С. 26–28.

117. 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 // Вісн. морфології. – 2011. – Т. 17, № 1. – С. 62–65.

118. Ходаківський О. А. Оцінка впливу похідного адамантану (сполуки ЮК-1) на церебральну гемодинаміку в умовах наркозу та гострої церебральної ішемії / О. А. Ходаківський // Патологія. – 2010. – Т. 7, № 2. – С. 35–37.

119. Ходаківський О. А. Оцінка фармакотерапевтичної ефективності двох похідних адамантану (сполук ЮК-1 та ЮК-4) за



динамікою показника летальності на моделі гострого порушення мозкового кровообігу у монгольських піщанок / О. А. Ходаківський, Г. І. Степанюк // Вісн. Вінниц. нац. мед. ун-ту. – 2011. – Т. 15, № 1. – С. 47–50.

120. Ходаківський О. А. Патогенетичне обґрунтування доцільності використання нових похідних адамантану при експериментальній терапії гострої ішемії головного мозку та міокарда (експериментальне дослідження) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія» / О. А. Ходаківський. – Одеса, 2014. – 24 с.

121. Ходаковский А. А. Особенности формирования постреперфузионного повреждения нейронов – характеристика модели «ишемия-реперфузия». Новые направления и перспективы развития современной церебропротекторной терапии ишемического инсульта / А. А. Ходаковский, Л. И. Маринич, О. В. Багаури // Врач-аспирант. – 2013. – № 3 (58). – С. 69–76.

122. Ходаковский А. А. Изучение апоптозодулирующих свойств адемола в условиях модельного нарушения мозгового кровообращения по его влиянию на экспрессию генов раннего реагирования / А. А. Ходаковский, С. В. Павлов, Н. В. Бухтиярова // Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. - 2013. - № 11(154), Вып. 22. - С. 155-159

123. Ходаковский А. А. Церебропротекторные свойства 1-адамантилетилокси-3-морфолино-2-пропанола гидрохлорида (адемола) в восстановительном периоде экспериментального ишемического инсульта / А. А. Ходаковский // Мед. вестн. Юга России. – 2013. – № 1. – С. 80–85.

124. Церебральный инсульт / Е. И. Гусев, М. Ю. Мартынов, П. Р. Камчатнов [и др.] // Consilium Medicum. – 2014. – № 12. – С. 13–17.

125. Черний В.И., Ельский В.Н., Городник Г.А. и др. Острая церебральная недостаточность. – Донецк: Издатель Заславский А.Ю., 2008. – 439 с.

126. Черний Т. В. Алгоритм подбора эффективной и безопасной дозы введения Тиоцетама на догоспитальном этапе лечения острой

церебральной недостаточности / Т. В. Черний, И. А. Андропова, В. И. Черний // Медицина неотлож. состояний. – 2010. – № 1. – С. 81–88.

127. Черний Т. В. Нейрофизиологические эффекты и типы реакций ЦНС в ответ на фармакологические воздействия. Нейропептиды / Т. В. Черний, И. А. Андропова // Медицина неотлож. состояний. – 2010. – № 1. – С. 148–155.

128. Шведський В. В. Вплив діакамфу гідрохлориду на показники енергетичного обміну в головному мозку щурів із моделлю церебральної ішемії на тлі цукрового діабету / В. В. Шведський, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін // Клініч. фармація. – 2011. – Т. 15, № 3. – С. 57–61.

129. Шведський В. В. Експериментальне порушення мозкового кровообігу на тлі алоксанового цукрового діабету: характеристика моделі / В. В. Шведський, О. А. Ходаківський // Буковин. мед. вісн. – 2012. – Т. 16, № 1 (61). – С. 150–156.

130. 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 // Клініч. фармація. – 2011. – Т. 15, № 2. – С. 7–12.

131. Шкриль В. М. Властивості кисеньчутливих електродів що використовуються у петч-клемп-експериментах на нервових клітинах / В. М. Шкриль, О. О. Лук'янець // Нейрофизиол. – 1998. – Т. 30, № 4/5. – С. 279–283.

132. Юшкова В. В. Протигіпоксичні та протиішемічні властивості амінокислотовмісних похідних 1,4-нафтохінону : дис. ... канд. мед. наук : 14.03.05 / В. В. Юшкова. – Вінниця, 1999. – 184 с.

133. Яворская В. А. Цитиколин при остром инсульте: механизм действия, безопасность и эффективность : (науч. обзор) / В. А. Яворская, Ю. В. Фломин, А. В. Гребенюк // Междунар. невролог. журн. – 2011. – № 2 (40). – С. 74–80.

134. Яворська В. О. Специфічне лікування ішемічного інсульту: нейропротекція [Електронний ресурс] / В. О. Яворська, Ю. В. Фломін // *Международ. невролог. журн.* – 2010. – № 6 (36). – Режим доступа: <http://www.mif-ua.com/archive/article/14305>.

135. 1,026 experimental treatments in acute stroke / V. E. O'Collins, M. R. Macleod, G. A. Donnan [et al.] // *Ann Neurol.* – 2006. – Vol. 59 - № 3. - P. 467-477.

136. Addition of NMDA-receptor antagonist MK801 during oxygen/glucose deprivation moderately attenuates the up-regulation of glucose uptake after subsequent reoxygenation in brain endothelial cells / W. Neuhaus, M. Burek, C. S. Djuzenova [et al.] // *Neuroscience Letters.* – 2012. – Vol. 506. – P. 44–49.

137. Advances in stroke neuroprotection: hyperoxia and beyond / A. B. Singhal, E. H. Lo, T. Dalkara [et al.] // *Neuroimaging. Clin. North. Am.* – 2005. – Vol. 15. – P. 697–720.

138. Allan S. M. Cortical cell death induced by IL-1 is mediated via actions in the hypothalamus of the rat / S. M. Allan, L. C. Parker, B. Collins // *Proc. Natl. Sci. USA.* – 2001. – Vol. 97. – P. 5580–5585.

139. Apoptosis and necrosis after reversible focal ischemia: au in situ DNA fragmentation analysis / C. Charriaut-Marlangue, M. Margaille, A. Represa [et al.] // *Blood Flow. Melab.* – 2009. – Vol. 16. – P. 186–194.

140. Arlander M. A behavioral analysis of the spatial learning deficit induced by the NMDA receptor antagonist MK-801 (dizocilpine) in the rat / M. Arlander, I. Misane, P. A. Schott // *Neuropsychopharmacol.* – 2007. – № 21. – P. 414–426.

141. Arthur J. W. Using proteomics to mine genome sequences / J. W. Arthur, M. R. Wilkins // *Journ. Proteom. Res.* – 2004. – Vol. 3. – P. 393–402.

142. Atkinson D. E. Citrate and citrate cycle in regulation of energy metabolism / D. E. Atkinson // *The metabolic roles of citrate.* – London ; New York, 1968. – P. 23–40.

143. Atorvastatin prevents hippocampal cell death due to quinolinic acid-induced seizures in mice by increasing Akt phosphorylation and glutamate uptake / T. C. Piermartiri, S. Vandresen-Filho, B. de Araujo Herculano [et al.] // *Neurotox. Res.* – 2009. – Vol. 16. – P. 106–115.

144. Boll M. C. Medical management of Parkinson's disease: focus on neuroprotection / M. C. Boll, M. Alcaraz-Zubeldia, C. Rios // *Curr. Neuropharmacol.* – 2011. – Vol. 9. – P. 350–359.

145. Bradykinin postconditioning protects pyramidal CA1 neurons against delayed neuronal death in rat hippocampus / V. Danielisova, M. Gottlieb, M. Nemethova [et al.] // *Cell Mol. Neurobiol.* – 2009. – Vol. 29. – P. 871–878.

146. Brain tolerance and preconditioning / R. Rejdak, K. Rejdak, M. Sieklucka-Dziuba [et al.] // *Pol. Journ. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 53. – P. 73–79.

147. Celso C. L. The Role of NMDA Receptors in the Development of Brain Resistance through Pre- and Postconditioning / C. L. Celso, C. I. Tasca, C. R. Boeck // *Aging Dis.* – 2014. – Vol. 12, № 5 (6). – P. 430–441.

148. Cerebrolysin in patients with acute ischemic stroke in Asia: results of a double-blind, placebo-controlled randomized trial / W. D. Heiss, M. Brainin, N. M. Bornstein [et al.] // *Stroke.* – 2012. – Vol. 43(3). – P. 630-636.

149. Cerebrolysin in vascular dementia: improvement of clinical outcome in a randomized, double-blind, placebo-controlled multicentral trial / B. Guekht, H. Moessler, Ph. H. Novak [et al.] // *Journal of stroke and cerebrovascular diseases.* – 2011. – Vol. 20, № 4. – P. 310–318.

150. Cho Y. Neuroprotective effects of N-methyl-D-aspartate receptor antagonist on aspartate induced neurotoxicity in the spinal cord in vivo / Y. Cho, I. Ueda, A. Mori // *Jap. Journ. Thorac. and Cardiovasc. Surg.* – 2003. – Vol. 51, № 10. – P. 500–505.

151. Choi D. W. Glutamate neurotoxicity in cortical cell culture is calcium dependent / D. W. Choi // *Neurosci. Lett.* – 1985. – Vol. 58. – P. 293–297.

152. Chronic, systemic treatment with a metabotropic glutamate receptor 5 antagonist produces anxiolytic-like effects and reverses abnormal firing activity of projection neurons in the basolateral nucleus of the amygdala in rats with bilateral 6-OHDA lesions / L. Chen, J. Liu, U. Ali [et al.] // *Brain Res. Bull.* – 2011. – Vol. 84. – P. 215–223.

153. Chuang D. M. N-methyl-D-aspartate exposure blocks glutamate toxicity in cultured cerebellar granule cells / D. M. Chuang, X. M. Gao, S. M. Paul // *Mol. Pharmacol.* – 1992. – Vol. 42. – P. 210–216.

154. Citicoline in treatment of acute ischaemic stroke: an international, randomized, multicenter, placebo-controlled study (ICTUS trial) / A. Davalos, J. Alvarez-Sabin, J. Castillo [et al.] // *Lancet.* – 2012. – Vol. 380. – P. 349–357.

155. Clark W. M. A randomized efficacy trial of citicoline in patient with acute ischemic stroke / W. M. Clark, B. J. Williams, K. A. Selzer // *Stroke.* – 2001. – Vol. 30. – P. 2592–2597.

156. Clarke M. Cell death in the cardiovascular system / M. Clarke, M. Bennett, T. Littlewood // *Heart.* – 2007. – Vol. 93. – P. 659–664.

157. Cortical evoked potential and extracellular K<sup>+</sup> and H<sup>+</sup> at critical levels of brain ischemia / J. Astrup, L. Symon, N. M. Branston, N. A. Lassen // *Stroke.* – 1977. – Vol. 8. – P. 51–57.

158. Cull-Candy S. NMDA receptor subunits: diversity, development and disease / S. Cull-Candy, S. Brickley, M. Farrant // *Curr. Opin. Neurobiol.* – 2001. – Vol. 11. – P. 327–335.

159. Delayed postconditioning initiates additive mechanism necessary for survival of selectively vulnerable neurons after transient ischemia in rat brain / J. Burda, V. Danielisova, M. Nemethova [et al.] // *Cell. Mol. Neurobiol.* – 2006. – Vol. 26. – P. 1141–1151.

160. Delayed postconditioning protects against focal ischemic brain injury in rats / C. Ren, X. Gao, G. Niu [et al.] // *PLoS One*. – 2008. – № 3. – P. e3851.

161. Dempsey R. J. Attenuation of brain edema, blood-brain barrier breakdown, and injury volume by ifenprodil, a polyamine-site N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, after experimental traumatic brain injury in rats / R. J. Dempsey, M. K. Baskaya, A. Dogan // *Neurosurgery*. – 2000. – Vol. 47. – P. 399–404.

162. Dickie B. G. Neurotoxic and neurotrophic effects of chronic N-methyl-D-aspartate exposure upon mesencephalic dopaminergic neurons in organotypic culture / B. G. Dickie, C. Holmes, S. A. Greenfield // *Neuroscience*. – 1996. – Vol. 72. – P. 731–741.

163. Digicaylioglu M. Erythropoietin-mediated neuroprotection involves cross-talk between Jak2 and NF-kappaB signalling cascades / M. Digicaylioglu, S. A. Lipton // *Nature*. – 2001. – Vol. 412. – P. 641–647.

164. Dirnagl U. Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection / U. Dirnagl, R. P. Simon, J. M. Hallenbeck // *Trends Neurosci*. – 2003. – Vol. 26. – P. 248–254.

165. Dirnagl U. Preconditioning and tolerance against cerebral ischaemia: from experimental strategies to clinical use / U. Dirnagl, K. Becker, A. Meisel // *Lancet. Neurol*. – 2009. – Vol. 8, № 4. – P. 398–412.

166. Dominant-negative effect of the c-fos family gene products on inducible NO synthase expression in macrophages / S. Okada, S. Obata, M. Hatano [et al.] // *Int. Immunol*. – 2008. – Vol. 15. – P. 1275–1282.

167. Early biochemical effects after unilateral hypoxia-ischemia in the immature rat brain / S. N. Weis, R. V. Schunck, L. F. Pettenuzzo [et al.] // *Int. Journ. Dev. Neurosci*. – 2011. – Vol. 29. – P. 115–120.

168. Early detection of DNA strand breaks in the brain after transient focal ischemia: implications for the role of dna damage in apoptosis and neuronal cell death / J. Chen, K. Jin, M. Chen [et al.] // *Neurochem*. – 2007. –

Vol. 69, № 1. – P. 232–245.

169. Early stress protein gene expression in a human model of ischemic preconditioning / A. Patel, M. C. Van de Poll, J. W. Greve [et al.] // *Transplantation*. – 2004. – Vol. 78. – P. 1479–1487.

170. Epsilon protein kinase C mediated ischemic tolerance requires activation of the extracellular regulated kinase pathway in the organotypic hippocampal slice / C. Lange-Asschenfeldt, A. P. Raval, K. R. Dave [et al.] // *Journ. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2004. – Vol. 24. – P. 636–645.

171. European Stroke Initiative (EUSI) Recommendations for Stroke management – update 2003 / W. Hacke, M. Kaste, J. Bogonsslavsky [et al.] // *Cerebrovasc. Dis.* – 2003. – Vol. 16, № 4. – P. 311–337.

172. Experimental treatments for acute ischemic stroke / R. Sacco, J. Y. Chong, S. Prabhakaran, M. S. Elkind // *Lancet*. – 2007. – Vol. 369. – P. 331–341.

173. Fatty acid binding protein as a serum marker for the early diagnosis of stroke, a pilot study / G. Catherine, N. Zimmermann-Ivol, R. Pierre [et al.] // *Molecular & Cellular Proteomics*. – 2004. – № 3. – P. 66–72.

174. Fisher M. Mechanisms of neural cell death: implications for development of neuroprotective treatment strategies / M. Fisher, A. G. Yakovlev, A. I. Faden // *NeuroRx*. – 2004. – Vol. 1. – P. 5–16.

175. Fisher M. The ischemic penumbra: a new opportunity for neuroprotection / M. Fisher // *Cerebrovasc. Dis.* – 2006. – Vol. 21, suppl. 2. – P. 64–70.

176. Friedlander R. M. Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases / R. M. Friedlander // *New Engl. Journ. Med.* – 2003. – Vol. 348, № 14. – P. 1365–1375.

177. Functional significance of cytosolic endothelial nitric-oxide synthase (eNOS) regulation of hyperpermeability / F. A. Sanchez, R. Eana, F. G. Gonzalez [et al.] // *Biol. Chem.* – 2011. – Vol. 286. – P. 30409–30414.

178. Gagliardi R. J. Neuroprotection, excitotoxicity and NMDA antagonists / R. J. Gagliardi // *Arq. Neuropsiquiatr.* – 2000. – Vol. 58. – P. 583–588.
179. Gibson C. L. Benefits of histone deacetylase inhibitors for acute brain injury – a systematic review of animal studies / C. L. Gibson, S. P. Murphy // *Journ. Neurochem.* – 2010. – Vol. 115, № 4. – P. 806–813.
180. Gidday J. M. Cerebral preconditioning and ischaemic tolerance / J. M. Gidday // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2006. – Vol. 7. – P. 437–448.
181. Ginsberg M. D. Neuroprotection for ischemic stroke: past, present and future / M. D. Ginsberg // *Neuropharmacology.* – 2008. – Vol. 55, № 3. – P. 363–389.
182. Ginsberg S. D. Expression profiling in neuropsychiatric disorders: emphasis on glutamate receptors in bipolar disorder / S. D. Ginsberg, S. E. Hemby, J. F. Smiley // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 2012. – Vol. 100. – P. 705–711.
183. Gladstone D. J. Toward wisdom from failure: lessons from neuroprotective stroke trials and new therapeutic directions / D. J. Gladstone, S. E. Black, A. M. Hakim // *Stroke.* – 2002. – Vol. 33, № 8. – P. 2123–2136.
184. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function / S. F. Traynelis, L. P. Wollmuth, C. J. McBain [et al.] // *Pharmacol. Rev.* – 2010. – Vol. 62. – P. 405–496.
185. Glutamatergic alterations and mitochondrial impairment in a murine model of Alzheimer disease / T. Cassano, G. Serviddio, S. Gaetani [et al.] // *Neurobiol. Aging.* – 2012. – Vol. 33. – P. e1112–1121.
186. Gonda X. Basic pharmacology of NMDA receptors / X. Gonda // *Curr. Pharm. Des.* – 2012. – Vol. 18. – P. 1558–1567.
187. Grabb M. S. Ischemic tolerance in murine cortical cell culture: critical role for NMDA receptors / M. S. Grabb, D. W. Choi // *Journ. Neurosci.* – 2009. – Vol. 19. – P. 1657–1662.



188. Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack 2008 / The European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee and the ESO Writing Committee // *Cerebrovascular Disorders*. – 2008. – Vol. 25, № 5. – P. 457–507.

189. Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association [Electronic Resource] / W. J. Powers, A. A. Rabinstein, T. Ackerson [et al.]. – 2018. – URL: <http://stroke.ahajournals.org/>.

190. Handbook of experimental pharmacology / J. A. Kemp, J. N. Kew, R. Gill ; eds.: P. Jonas, H. Monyer. – Berlin : Springer, 1999. – Vol. 141. – P. 495–527.

191. Hardingham G. E. Coupling of the NMDA receptor to neuroprotective and neurodestructive events / G. E. Hardingham // *Biochem. Soc. Trans.* – 2009. – Vol. 37. – P. 1147–1160.

192. Heart disease and stroke statistics-2015 update / D. Mozaffarian, E. J. Benjamin, A. S. Go [et al.] // *Circulation*. – 2014. – Vol. 131 (24). – P. e535.

193. Histone Deacetylases Exert Class-Specific Roles in Conditioning the Brain and Heart Against Acute Ischemic Injury / S. E. Aune, D. J. Herr, C. J. Kutz, D. R. Menick // *Front Neurol*. – 2015. – Vol. 30, № 6. – P. 145.

194. Hossman K.-A. Viability thresholds and the penumbra of focal ischemia / K.-A. Hossman // *Ann. Neurol*. – 1994. – Vol. 36. – P. 557–565.

195. Huang P. L. Nitric oxide and cerebral ischemic preconditioning / P. L. Huang // *Cell Calcium*. – 2004. – Vol. 36. – P. 323–329.

196. Hynd M. R. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease / M. R. Hynd, H. L. Scott, P. R. Dodd // *Neurochem. Int*. – 2004. – Vol. 45. – P. 583–595.

197. Hypoxia and mitochondrial oxidative metabolism / G. Solaini, A. Baracca, G. Lenaz [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2010. – Vol. 27. – P. 1171–1177.

198. Ikonomidou C. Why did NMDA receptor antagonists fail clinical trials for stroke and traumatic brain injury? / C. Ikonomidou, L. Turski // *Lancet. Neurol.* – 2002. – № 1. – P. 383–386.

199. Implication of AMP-activated protein kinase in transient receptor potential vanilloid type 1-mediated activation of endothelial nitric oxide synthase / Ching Li-Chieh, Chen Chien-Yu, Su Kuo-Hui [et al.] // *Mol. Med.* – 2012. – № 18. – P. 805–815.

200. In vivo and in vitro characterization of a novel neuroprotective strategy for stroke: ischemic postconditioning / G. Pignataro, R. Meller, K. Inoue [et al.] // *Journ. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2008. – Vol. 28. – P. 232–241.

201. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning / Z. Q. Zhao, J. S. Corvera, M. E. Halkos [et al.] // *Am Journ. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2003. – Vol. 285. – P. H579–H588.

202. Ischaemic postconditioning protects brain from ischaemia/reperfusion injury by attenuating endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis through Akt pathway / Y. Yuan, Q. Guo, Z. Ye [et al.] // *Brain Res.* – 2011. – Vol. 1367. – P. 85–93.

203. Ischaemic postconditioning resues brain injury caused by focal ischaemia-reperfusion via attenuation of protein oxidzation / Z. Y. Li, B. Liu, J. Yu [et al.] // *The journal of international medical research.* – 2012. – Vol. 40. – P. 954–966.

204. Ischemic preconditioning induces autophagy and limits necrosis in humanrecipients of fatty liver grafts, decreasing the incidence of rejection episodes / D. Degli Esposti, M. Sebah, P. Pham [et al.] // *Cell. Death. Dis.* – 2010. – Vol. 2.– P. 111.

205. Ischemic preconditioning reduces endoplasmic reticulum stress and upregulates hypoxia induciblefactor-1a in ischemic kidney: the role of nitric oxide / A. Mahfoudh-Boussaid, M. Amine Zaouali, K. Hadj-Ayed [et al.] //

Journal of Biomedical Science. – 2012. – Vol. 19. – P. 2–8.

206. Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection / U. Dimagl, R. P. Simon, J. M. Hallenbeck [et al.] // *Journ. Trends Neurosci.* – 2009. – Vol. 26. – P. 248–254.

207. Jain K. K. Nitric oxide therapeutics, markets and companies / K. K. Jain // *A Jain. Pharma. Biotech. Report.* – 2012. – 198 p.

208. Jones N. M. Hypoxic preconditioning induces changes in HIF-1 target genes in neonatal rat brain / N. M. Jones, M. Bergeron // *Journ. Cereb. Blood Flow. Metab.* – 2001. – Vol. 21. – P. 1105–1114.

209. Jorgensen M. B. Selective neuron loss after cerebral ischemia in the rat: possible role of transmitter glutamate / M. B. Jorgensen, N. H. Diemer // *Acta Neurol. Scand.* – 1982. – Vol. 66. – P. 536–546.

210. Kainate postconditioning restores LTP in ischemic hippocampal CA1: onset-dependent second pathophysiological stress / D. Nagy, K. Kocsis, J. Fuzik [et al.] // *Neuropharmacology.* – 2011. – Vol. 61. – P. 1026–1032.

211. Khodakovskiy O. A. Corrective influence of ademol on metabolism of nitrogen monoxide in the brain of the rats with modeling cerebral ischemia / O. A. Khodakovskiy, A. Y. Khodakovskiy // *Буковин. мед. вісн.* – 2014. – Т. 18, № 1 (69). – С. 134–138.

212. Kidwell C. S. Trends in acute ischemic stroke trials through the 20th century / C. S. Kidwell, D. S. Liebeskind, S. Starkman // *Stroke.* – 2001. – Vol. 32, № 6. – P. 1349–1359.

213. Knight R. A. Cell death in disease: from 2010 onwards / R. A. Knight, G. Melino // *Cell. Death. Dis.* – 2011. – Vol. 2. – P. 202.

214. Kuroda S. Reperfusion damage following focal ischemia: pathophysiology and therapeutic windows / S. Kuroda, B. K. Siesjo // *Clin. Neurosci.* – 1997. – Vol. 4. – P. 199–212.

215. Lack of pathology in a triple transgenic mousemodel of Alzheimer's disease after over expression of the anti apoptotic protein Bcl-2 / T. T. Rohn, V. Vyas, T. Hernandez-Estrada [et al.] // *Journ. Neurosci.* – 2008. – Vol. 28. – P.

3051–3059.

216. Langley B. Targeting histone deacetylases as a multifaceted approach to treat the diverse outcomes of stroke / B. Langley, C. Brochier, M. A. Riviaccio // *Stroke*. – 2009. – Vol. 40. – P. 2899–2905.

217. L-arginine in focal cerebral ischemia / C. Temiz, K. Tun, H. C. Ugur [et al.] // *Neurological research*. – 2007. – № 5. – P. 465–470.

218. Lau A. Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration / A. Lau, M. Tymianski // *Pflugers. Arch.* – 2010. – Vol. 460, № 2. – P. 525–542.

219. Liu K. The dynamic detection of NO during stroke and reperfusion in vivo / K. Liu, Q. Li, L. Zhang // *Brain Inj.* – 2009. – Vol. 5, № 23. – P. 450–458.

220. Lucibello F. Multiple interdependent regulatory sites in the mouse c-fos promoter determine basal level transcription: cell type-specific effects / F. Lucibello, F. Ehlert, R. Muller // *Nucleic. Acids. Res.* – 2011. – Vol. 19. – P. 3583–3591.

221. Magnesium neuroprotective following global and focal cerebral ischaemia? A review of published studies / B. P. Meloni, H. Zhu, N. W. Knuckey [et al.] // *Magnes. Res.* – 2006. – Vol. 19, № 2. – P. 123–137.

222. Malate-aspartate shunt in neuronal adaptation to ischemic conditions: molecular-biochemical mechanisms of activation and regulation / I. F. Belenichev, Yu. M. Kolesnik, S. V. Pavlov [et al.] // *Neurochemical Journal*. – 2012. – Vol. 6, № 1. – P. 22–28.

223. Marti A. Protein kinase A and AP-1 (c-fos/jun D) are induced during apoptosis of mouse mammary epithelial cells / A. Marti // *Oncogene*. – 2008. – Vol. 9. – P. 1213–1217.

224. Massa S. M. The stress gene response in brain / S. M. Massa, R. A. Swanson, F. R. Sharp // *Cerebrovasc. Brain. Metab. Rev.* – 1996. – Vol. 8. – P. 95–158.

225. McIntosh T. K. Novel pharmacologic therapies in the treatment of experimental traumatic brain injury: a review / T. K. McIntosh // *Journ. Neurotrauma*. – 1993. – Vol. 10. – P. 215–261.

226. Mechanisms of cell death in oxidative stress / S. W. Ryter, H. P. Kim, A. Hoetzel [et al.] // *Antioxid Redox Signal*. – 2007. – Vol. 9. – P. 49–89.

227. Meldrum B. S. Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology / B. S. Meldrum // *Journ. Nutr.* – 2000. – Vol. 130. – P. 1007S–1015S.

228. Meloni B.P. Is magnesium neuroprotective following global and focal cerebral ischaemia? A review of published studies. B. P. Meloni, H. Zhu, N. W. Knuckey // *Magnes Res.* – 2006. – Vol. 19, № 2. – P.123-137.

229. Mild hypoxia preconditioning prevents impairment of passive avoidance learning and suppression of brain NGFI-A expression induced by severe hypoxia / E. Rybnikova, L. Vataeva, E. Tyulkova [et al.] // *Behav. Brain Res.* – 2005. – Vol. 160. – P. 107–114.

230. Mitochondrial respiratory chain and creatine kinase activities following trauma brain injury in brain of mice preconditioned with N-methyl-D-aspartate / C. R. Boeck, L. S. Carbonera, M. E. Milioli [et al.] // *Mol. Cell. Biochem.* – 2013. – Vol. 384, № 1/2. – P. 129–137.

231. Modulation of cannabinoid receptor activation as a neuroprotective strategy for EAE and stroke / M. Zhang, B. R. Martin, M. W. Adler [et al.] // *Journ. Neuroimmune Pharmacol.* – 2009. – Vol. 4, № 2. – P. 249–259.

232. Moghaddam B. From revolution to evolution: the glutamate hypothesis of schizophrenia and its implication for treatment / B. Moghaddam, D. Javitt // *Neuropsychopharmacology*. – 2012. – Vol. 37. – P. 4–15.

233. Muir K. W. Glutamate-based therapeutic approaches: clinical trials with NMDA antagonists / K. W. Muir // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 6. – P. 53–60.

234. Neuronal gap junctions are required for NMDA receptor-mediated excitotoxicity: implications in ischemic stroke / Y. Wang, J. V. Denisova, K. S.

Kang [et al.] // *Journ. Neurophysiol.* – 2010. – Vol. 104. – P. 3551–3556.

235. Neuroprotection by group I mGlu receptors in a rat hippocampal slice model of cerebral ischemia is associated with the PI3K-Akt signaling pathway: a novel postconditioning strategy? / T. Scartabelli, E. Gerace, E. Landucci [et al.] // *Neuropharmacology.* – 2008. – Vol. 55. – P. 509–516.

236. Neuroprotective effects of ischemic postconditioning on global brain ischemia in rats through upregulation of hippocampal glutamine synthetase / W. Zhang, Y. Miao, S. Zhou [et al.] // *Journ. Clin. Neurosci.* – 2011. – Vol. 1. – P. 685–689.

237. Neurothrombectomy devices for the treatment of acute ischemic stroke: state of the evidence / W. L. Baker, J. A. Colby, V. Tongbram [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 2011. – Vol. 154. – P. 243–252.

238. NMDA preconditioning protects against seizures and hippocampal neurotoxicity induced by quinolinic acid in mice / C. R. Boeck, M. Ganzella, A. Lottermann, D. Vendite // *Epilepsia.* – 2004. – Vol. 45. – P. 745–750.

239. NMDA receptor antagonism, but not AMPA receptor antagonism attenuates induced ischaemic tolerance in the gerbil hippocampus / A. Bond, D. Lodge, C. A. Hicks [et al.] // *Eur. Journ. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 380. – P. 91–99.

240. Nurse-Coordinators and Investigators. Field validation of the Los Angeles Motor Scale as a tool for paramedic assessment of stroke severity / J. T. Kim, P. W. Chung, S. Starkman [et al.] // *Stroke.* – 2017. – Vol. 48. – P. 298–306.

241. Oliynyk S. The Pharmacology of Actoprotectors: Practical Application for Improvement of Mental and Physical Performance / S. Oliynyk, S. Oh // *Biomol. Ther.* – 2012. – Vol. 20, № 5. – P. 446–456.

242. Omer N. Nitric oxide: role in human biology / N. Omer, A. Rohilla, S. Rohilla // *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research.* 2012. № 4(2).-P. 105-109.

243. Optic nerve and neuroprotection strategies / N. N. Osborne, G. Chidlow, C. J. Layton [et al.] // *Eye*. – 2004. – Vol. 18, № 11. – P. 1075–1084.
244. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction as determinants of ischaemic neuronal death and survival / K. Niizuma, H. Endo, P. H. Chan [et al.] // *Neurochem*. – 2009. – Vol. 109, suppl 1. – P. 133–138.
245. Pandya R. S. Central nervous system agents for ischemic stroke: neuroprotection mechanisms / R. S. Pandya, L. Mao, H. Zhou // *Cent. Nerv. Syst. Agents. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 1 (27). – P. 56–59.
246. Perez-Pinzon M. A. Role of reactive oxygen species and protein kinase C in ischemic tolerance in the brain / M. A. Perez-Pinzon, K. R. Dave, A. P // *Raval. Antioxid. Redox. Signal.* – 2005. – Vol. 7. – P. 1150–1157.
247. Pharmacologic interventions for stroke: looking beyond the thrombolysis time window into the penumbra with biomarkers, not a stopwatch / J. C. Chavez, O. Hurko, F. C. Barone, G. Z. Feuerstein // *Stroke*. – 2009. – Vol. 40, № 10. – P. e558–563.
248. Pignataro G. Prolonged activation of ASIC1a and the time window for neuroprotection in cerebral ischaemia / G. Pignataro, Z. Xiong, R. P. Simon // *Brain*. – 2007. – Vol. 130. (Pt 1). – P. 151–158.
249. Postconditioning the human heart / P. Staat, G. Rioufol, C. Piot [et al.] // *Circulation*. – 2005. – Vol. 112. – P. 2143–2148.
250. Postconditioning, a series of brief interruptions of early reperfusion, prevents neurologic injury after spinal cord ischemia / X. Jiang, E. Shi, Y. Nakajima, S. Sato // *Ann. Surg.* – 2006. – Vol. 244. – P. 148–153.
251. Post-ischemic brain damage: effect of ischemic preconditioning and postconditioning and identification of potential candidates for stroke therapy / G. Pignataro, A. Scorziello, G. Di Renzo, L. Annunziato // *FEBS Journ.* – 2009. – Vol. 276, № 1. – P. 46–57.
252. Prasad S. S. Neuroprotection induced in vitro by ischaemic preconditioning and postconditioning: modulation of apoptosis and PI3K-Akt pathways / S. S. Prasad, M. Russell, M. Nowakowska // *Mol. Neurosci.* – 2011.

– Vol. 43. – P. 428–442.

253. Preconditioning prevents the inhibition of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity after brain ischemia / A. T. de Souza Wyse, E. L. Streck, P. Worm [et al.] // *Neurochem. Res.* – 2000. – Vol. 25. – P. 971–975.

254. Preconditioning-induced neuroprotection is mediated by reactive oxygen species / A. Ravati, B. Ahlemeyer, A. Becker, J. Krieglstein // *Brain. Res.* – 2000. – Vol. 866. – P. 23–32.

255. Prehospital use of magnesium sulfate as neuroprotection in acute stroke / J. L. Saver, S. Starkman, M. Eckstein [et al.] // *New Engl. Journ. Med.* – 2015. – Vol. 372. – P. 528–536.

256. Rauchova H. Hypoxia-Induced Lipid Peroxidation in the Brain During Postnatal Ontogenesis / H. Rauchova, M. Vokurlova, J. Koudelova // *Physiol. Res.* – 2012. – Vol. 61, suppl. 1. – P. S89–S101.

257. Ray P. D. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling / P. D. Ray, B. W. Huang, Y. Tsuji // *Cell Signal.* – 2012. – Vol. 24. – P. 981–990.

258. Reed T. T. Lipid peroxidation and neurodegenerative disease / T. T. Reed // *Free Radic. Biol. Med.* – 2011. – Vol. 51. – P. 1302–1319.

259. Regulation of intraocular pressure in mice: structural analysis of dopaminergic and serotonergic systems in response to cabergoline / G. M. Leggio, F. Drago, S. Salomone [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 89. – P. 1347–1356.

260. Relationship between excitatory amino acid release and outcome after severe human head injury / S. S. Koura, E. M. Doppenberg, A. Marmarou [et al.] // *Acta Neurochir. Suppl.* – 1998. – Vol. 71. – P. 244–246.

261. Remote organ ischemic preconditioning protect brain from ischemic damage following asphyxial cardiac arrest / K. R. Dave, I.Saul, R. Prado [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2006. – Vol. 404. – P. 170–175.

262. Requirement for nitric oxide activation of p21(ras)/extracellular regulated kinase in neuronal ischemic preconditioning / M. Gonzalez-Zulueta,



A. B. Feldman, L. J. Klesse [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2000. – Vol. 97. – P. 436–441.

263. Role of apoptosis in disease / B. Favaloro, N. Allocati, V. Graziano [et al.] // Aging. – 2012. – Vol. 4, № 5. – P. 330–349.

264. Role of synaptic and nonsynaptic glutamate receptors in ischaemia induced neurotoxicity / A. Brassai, R. G. Suvanjev, E. G. Bán, M. Lakatos // Brain Res. Bull. – 2015. – Vol. 112. – P. 1–6.

265. Sang A. Myocardial postconditioning: reperfusion injury revisited / A. Sang, D. J. Hausenloy, D. M. Yellon // Am Journ. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2005. – Vol. 289. – P. H2– H7.

266. Schaller B. Cerebral ischemic preconditioning. An experimental phenomenon or a clinical important entity of stroke prevention? / B. Schaller, R. Graf // Journ. Neurol. – 2002. – Vol. 249. – P. 1503–1511.

267. Seikwan Oh. Actoprotectors – new class of pharmacological agents / Oh. Seikwan, S. Oliynyk. – Seul, 2015. – 150 p.

268. Shibuta S. Rttamine and thiopental sodium: individual and combined neuroprotective effects on cortical cultures exposed to NMDA or nitric oxide / S. Shibuta, S. Varathan, T. Mashimo // Br. Journ. Anaesth. – 2006. – Vol. 97, № 4. – P. 517–524.

269. Siesjo B. K. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part I: pathophysiology / B. K. Siesjo // Journ. Neurosurg. – 1992. – Vol. 77. – P. 169–184.

270. Siesjo B. K. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part II: mechanisms of damage and treatment / Siesjo B. K. // Journ. Neurosurg. – 1992. – Vol. 77, № 3. – P. 337–354.

271. Simone F. Biotechnology, animal health and animal welfare within the framework of European Union legislation / F. Simone, J. Serratos // Rev. Sci. Tech. Oie. – 2005. – Vol. 24, № 1. – P. 89–99.

272. Stone T. W. The pharmacological manipulation of glutamate receptors and neuroprotection / T. W. Stone, J. I. Addae // *Eur. Journ. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 447. – P. 285–296.

273. Superoxide flashes: early mitochondrial signals for oxidative stress-induced apoptosis / Q. Ma, H. Fang, W. Shang [et al.] // *The Journal of Biological Chemistry.* – 2011. – Vol. 286, № 31. – P. 27573–27581.

274. Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders / G. Sanacora, C. A. Zarate, J. H. Krystal, H. K. Manji // *Nat. Rev. Drug. Discov.* – 2008. – Vol. 7. – P. 426–437.

275. The adaptive effects of hypoxic preconditioning of brain neurons / M. O. Samoilov, E. V. Lazarevich, D. G. Semenov [et al.] // *Neurosci. Behav. Physiol.* – 2003. – Vol. 33. – P. 1–11.

276. The oxygen free radicals originating from mitochondrial complex I contribute to oxidative brain injury following hypoxia-ischemia in neonatal mice / Z. V. Niatetskaya, S. A. Sosunov, D. Matsiukevich [et al.] // *Journal of neuroscience.* – 2012. – Vol. 32, № 9. – P. 3235–3244.

277. The role of excitatory amino acids and NMDA receptors in traumatic brain injury / A. I. Faden, P. Demediuk, S. S. Panter, R. Vink // *Science.* – 1989. – Vol. 244. – P. 798–800.

278. The Role of the Neuroprotective Factor Npas4 in Cerebral Ischemia / F. C. Choy, T. S. Klarić, S. A. Koblar, M. D. Lewis // *Int. Journ. Mol. Sci.* – 2015. – Vol. 16, № 12. – P. 29011–29028.

279. TNF-alpha-induced tolerance to ischemic injury involves differential control of NF-kappaB transactivation: the role of NF-kappaB association with p300 adaptor / I. Ginis, R. Jaiswal, D. Klimanis [et al.] // *Journ. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2002. – Vol. 22. – P. 142–152.

280. Tolerance-Inducing dose of 3-nitropropionic acid modulates bcl-2 and bax balance in the rat brain: a potential mechanism of chemical preconditioning / A. M. Rambrink, A. Schneider, H. Noga [et al.] // *Journ. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2000. – Vol. 20. – P. 1425–1436.

281. Toyoda T. Induction of ischemic tolerance and antioxidant activity by brief focal ischemia / T. Toyoda, N. F. Kassell, K. S. Lee // *Neuroreport*. – 1997. – Vol. 8. – P. 847–851.
282. Tymianski M. Emerging mechanisms of disrupted cellular signaling in brain ischemia / M. Tymianski // *Nat. Neurosci.* – 2011. – Vol. 14. – P. 1369–1373.
283. Vanhoutte P. Opposing roles of synaptic and extrasynaptic NMDA receptors in neuronal calcium signalling and BDNF gene regulation / P. Vanhoutte, H. Bading // *Curr. Opin. Neurobiol.* – 2003. – Vol. 13, № 3. – P. 366–371.
284. Vizi E. S. Role of nonsynaptic GluN2B-containing NMDA receptors in excitotoxicity: evidence that fluoxetine selectively inhibits these receptors and may have neuroprotective effects / E. S. Vizi, M. Kisfali, T. Lorincz // *Brain Res. Bull.* – 2013. – Vol. 93. – P. 32–38.
285. Wang X. Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain / X. Wang, E. K. Michaelis // *Front. Aging. Neurosci.* – 2010. – Vol. 2, № 12. – P. 24–29.
286. Waring P. Apoptosis or programmed cell death / P. Waring, F. J. Kos, A. Mullbacher // *Med. Res. Rev.* – 2008. – № 11. – P. 219–236.
287. Winczura A. Damage of DNA and proteins by major lipid peroxidation products in genome stability / A. Winczura, D. Zdzalik, B. Tudek // *Free Radic Res.* – 2012. – Vol. 46, № 4. – P. 442–459.
288. Zhao H. Interrupting reperfusion as a stroke therapy: ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats / H. Zhao, R. M. Sapolsky, G. K. Steinberg // *Journ. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2006. – Vol. 26. – P. 1114–1121.

## **ПАТЕНТИ**



УКРАЇНА

(19) (UA)

(11) **58841 A**

(51) 7 **A61K31/075,  
31/535**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І  
НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## Деклараційний патент на винахід

видано відповідно до Закону України  
"Про охорону прав на винаходи і корисні моделі"

Голова Державного Департаменту  
інтелектуальної власності



М. Паладій

(21) 2002118876  
(22) 08.11.2002  
(24) 15.08.2003  
(46) 15.08.2003. Бюл.№ 8

(72) Короткий Юрій Васильович, Лозинський Мирон Онуфрійович, Степанюк Георгій Іванович, Волощук Наталія Іванівна, Юшкова Вікторія Віталіївна, Сергєєв Сергей Валерієвич, Драчук Ольга Петрівна  
(73) Інститут органічної хімії Національної академії наук України

(54) **1-АДАМАНТИЛЕТИЛОКСИ-3-ДІАЛКІЛАМІНО-2-ПРОПАНОЛ ГІДРОХЛОРИДИ, ЯКІ  
ВИЯВЛЯЮТЬ НООТРОПНУ ДІЮ**

УКРАЇНА

UKRAINE 66



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 51684

**ЗАСТОСУВАННЯ 1-(АДАМАНТИЛ-1-АЛКОКСИ)-3-  
ДИАЛКЛАМІНО-2-ПРОПАНОЛІВ ЯК ЗАСОБІВ, ЯКІ МАЮТЬ  
ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНУ АКТИВНІСТЬ**

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **26.07.2010**.

Голова Державного департаменту  
інтелектуальної власності

М.В. Паладій



(11) 51684

(19) UA

(51) МПК (2009)  
C07D 295/084 (2006.01)  
C07C 13/00  
A61K 31/13  
A61K 31/075  
A61K 31/53

(21) Номер заявки: **u 2010 01439**  
(22) Дата подання заявки: **12.02.2010**  
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **26.07.2010**  
(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня: **26.07.2010, Бюл. № 14**

(72) Винахідники:  
**Короткий Юрій Васильович, UA,**  
**Степанюк Георгій Іванович, UA,**  
**Ходаківський Олексій Анатолійович, UA,**  
**Лозинський Мирон Онуфрійович, UA,**  
**Смертенко Олена Аронівна, UA,**  
**Чорнаїван Наталія Георгіївна, UA**

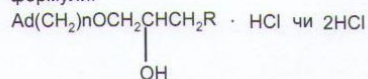
(73) Власник:  
**ІНСТИТУТ ОРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ НАН УКРАЇНИ,**  
вул. Мурманська, 5, м.Київ-94, 02094, UA

(54) Назва корисної моделі:

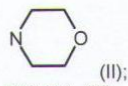
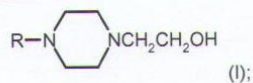
**ЗАСТОСУВАННЯ 1-(АДАМАНТИЛ-1-АЛКОКСИ)-3-ДІАЛКІЛАМІНО-2-ПРОПАНОЛІВ ЯК ЗАСОБІВ, ЯКІ МАЮТЬ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНУ АКТИВНІСТЬ**

(57) Формула корисної моделі:

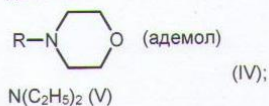
Застосування 1-(адамантил-1-алкокси)-3-діалкіламіно-2-пропанолів формули:



де  $n = 1$ :



$\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$  (III),  
де  $n = 2$ :



$\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$  (V)

УКРАЇНА



# ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 97765

**ЗАСТОСУВАННЯ 1-(1-АДАМАНТИЛ-1-ЕТОКСИ)-3-(N-МЕТИЛДІАЛКІЛАМОНІЙ)-2-ПРОПАНОЛ ЙОДИДІВ ЯК ЗАСОБІВ, ЯКІ МАЮТЬ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНУ ДІЮ**

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **10.04.2015**.

Голова Державної служби інтелектуальної власності України

А.Г. Жаринова





(11) **97765**

(19) **UA**

(51) МПК (2015.01)  
**C07D 295/084** (2006.01)  
**C07C 13/00**  
**A61K 31/13** (2006.01)  
**A61K 31/075** (2006.01)  
**A61K 31/00**

(21) Номер заявки: **u 2014 08402**  
(22) Дата подання заявки: **24.07.2014**  
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.04.2015**  
(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня: **10.04.2015, Бюл. № 7**

(72) Винахідники:  
**Короткий Юрій Васильович, UA,**  
**Степанюк Георгій Іванович, UA,**  
**Коваль Богдан Олександрович, UA,**  
**Степанюк Наталія Георгіївна, UA,**  
**Смертенко Олена Аронівна, UA**

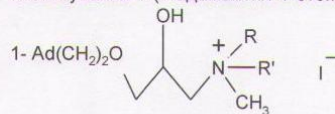
(73) Власники:  
**ІНСТИТУТ ОРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ НАН УКРАЇНИ,**  
вул. Мурманська, 5, м. Київ-94, 02660, UA,  
**ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М. І. ПИРОГОВА,**  
вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, UA

(54) Назва корисної моделі:

**ЗАСТОСУВАННЯ 1-(1-АДАМАНТИЛ-1-ЕТОКСИ)-3-(N-МЕТИЛДІАЛКІЛАМОНІЙ)-2-ПРОПАНОЛ ЙОДИДІВ ЯК ЗАСОБІВ, ЯКІ МАЮТЬ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНУ ДІЮ**

(57) Формула корисної моделі:

Застосування 1-(1-адамантил-1-етокси)-3-(N-метилдіалкіламоній)-2-пропанол йодидів формули



II - III

де R=R' = (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub> (II), (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> (III),  
як засобів, які мають церебропротекторну дію.

## **Наукове видання**

Степанюк Георгій Іванович,

Мороз Василь Максимович,

Ходаківський Олексій Анатолійович,

Волощук Наталія Іванівна,

Драчук Ольга Петрівна,

Степанюк Наталія Георгіївна,

Галаченко Вікторія Віталіївна,

Лозинський Мирон Онуфрійович,

Короткий Юрій Васильович,

Сергеев Сергій Валерійович,

Черешнюк Ігор Леонідович