

Т. О. Дев'яткіна, Л. І. Волошина, В. Є. Клуша

Корекція цереброкрастом репаративного остеогенезу на фоні хронічного стресу

Установлено протекторное действие цереброкраста — производного 1,4-дигидропиридина — на процессы репаративного остеогенеза у крыс при комплексном действии хронического эмоционально-болевого стресса и травмы нижней челюсти. Оно обусловлено антиоксидантными свойствами цереброкраста, а также его стабилизирующим влиянием на гликопротеины и кальциевый гомеостаз. Полученные результаты расширяют представления об общеметаболическом действии исследованного ноотропа на уровне всего организма и свидетельствуют о целесообразности его использования для профилактики экстремальных состояний.

Вступ

Щелепно-лицеві травми часто виникають у стресових ситуаціях і супроводжуються розвитком гострої емоційно-больової реакції. Внаслідок цього порушуються нейрогуморальні механізми регуляції адаптаційних процесів [14], пригнічуються пластичні функції в кістковій тканині [13], спостерігається активація катаболічних процесів у тканинах пародонту [16]. Відомо, що ноотропні засоби мають властивість підвищувати стійкість людини та тварин до екстремальних умов, забезпечують активну адаптацію без зниження дієздатності організму під час стресу та являють собою низькотоксичні сполуки [5, 8].

Цереброкраст (похідний 1,4-дигідропіридину) — препарат з неотропними властивостями — синтезовано в Інституті органічного синтезу Латвійської АН на основі природних метаболітів [17]. Поряд з церебропротекторною активністю, яка проявляється в поліпшенні пам'яті [21], антиамнестичній [18] та антигіпоксичній дії [1, 20], цереброкраст підвищує резистентність організму до емоційно-больового стресу (ЕБС) — зменшує стресорну активацію перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у крові [7], знижує деструктивні процеси та покращує мікроциркуляцію в нижній щелепі [4].

Мета нашої роботи — вивчити дію цереброкрасту на процеси репаративного остеогенезу при травмі нижньої щелепи щурів на фоні хронічного емоційно-больового стресу (ЕБС).

Методика

Дослідження проведено на 70 білих щурах-самцях лінії Вістар, яких розподілили на три групи. До I групи ввійшли інтактні щури (10 тварин), до II — тварини (30 щурів), яким моделювали впродовж 14 діб «невроз тривоги та очікування» за методикою Desiderato в модифікації Кресюна [9]. Тваринам III групи (30 щурів) за умов стресу через добу вводили цереброкраст (0,05 мг/кг внутрішньоочеревинно). По закінченні стресорного

© Т. О. Дев'яткіна, Л. І. Волошина, В. Є. Клуша

впливу у щурів II і III груп відтворювали наскрізний дірчастий дефект нижньої щелепи. З експерименту тварин виводили знекровленням під гексеналовим наркозом (100 мг/кг).

Враховуючи, що головним патогенетичним механізмом стресорного пошкодження тканин є активація ПОЛ [2, 6, 11] на фоні зниження антиоксидантного захисту [6], ми досліджували перекисний гемоліз еритроцитів [19] та активність антиоксидантних ферментів: супероксиддисмутази (СОД) у крові [3] та церулоплазмину в сироватці крові [22]. Стан процесів репаративного остеогенезу оцінювали за активністю кислотої та лужної фосфатази у сироватці крові (набір реактивів за Боданським) і в кістковій тканині нижньої щелепи [15], за вмістом сіалових кислот [10] і Ca^{2+} (набір фірми «Lachema», Чеська Республіка) у сироватці крові і кістковій тканині нижньої щелепи щурів, а також на підставі гістологічних досліджень з використанням загальноприйнятих методик. Дослідження проводили в динаміці на 7-, 14- та 21-шу добу після сумісної дії хронічного ЕБС і травми нижньої щелепи. Статистичну обробку результатів виконано на мікро-ЕВМ МК-52. Достовірність оцінювали за допомогою критерію *t* Стьюдента.

Результати та їх обговорення

При вивченні дії цереброкрасту на організм тварин, які зазнали спільного впливу хронічного ЕБС і травми, встановлені його протекторні властивості відносно процесів пероксидації в організмі і стану кісткової тканини нижньої щелепи. Цереброкраст знижував перекисний гемоліз еритроцитів (в 2,5 рази на 14-ту добу після відтворення травми на фоні хронічного ЕБС), що узгоджується з результатами досліджень Плотнікової та співавт., які довели захисний вплив неотропного засобу на мембрани еритроцитів [12]. Одночасно цереброкраст нормалізував активність СОД у крові (на 7-му і 14-ту добу) порівняно зі значеннями контрольних тварин і попереджував активацію церулоплазмину в сироватці крові (табл.1). Таким чином, при дії двох патогенних факторів цереброкраст виявляв антиоксидантні властивості. Це підтверджує дані, які ми отримали на моделі хронічного ЕБС [7].

За цих же умов експерименту цереброкраст зменшував порушення метаболізму в кістковій тканині нижньої щелепи, попереджував декальцинацію, стабільно затримував зниження вмісту Ca^{2+} на 7-, 14- і 21-шу добу після відтворення ЕБС і травми, наближуючи його до значень показників інтактних щурів наприкінці дослідження. На 7-му добу після завершення хронічного емоційно-больового впливу і моделювання дефекту нижньої щелепи цереброкраст запобігав підвищенню в ній активності кислотої фосфатази (в 1,7 рази) і сприяв підвищенню активності лужної фосфатази (в 1,5 рази) порівняно з контролем, що підвищує його регулюючу дію на функції остеобластів та остеокластів. Такий же напрямок дії на активність кислотої фосфатази, як і в нижній щелепі, цереброкраст виявляв у сироватці крові. Відмічалось достовірне зниження активності ферменту на 7-му і 14-ту добу дослідження (в 3,4 і в 2,2 рази відповідно) порівняно зі значеннями аналогічних показників у тварин, які не отримували цереброкраст. Поряд з цим, останній знижував вміст сіалових кислот у сироватці крові (в 1,4 рази) на 14-ту добу, що свідчить про зменшення розпаду неколагенових білків (табл. 2).

Таблиця 1. Вплив церебрократу на стан перекисного окиснення ліпідів у крові щурів за умов сумісної дії хронічного емоційно-больового стресу (ЕБС) і травми (M±m)

| Показник | Інтактні тварини (I група) | Тварини, яким моделювали ЕБС і травму (II група) | | | Тварини, яким моделювали ЕБС, травму і вводили церебрократ (III група) | | |
|--------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------|----------------|---------------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|
| | | 7-ма доба | 14-та доба | 21-ша доба | 7-ма доба | 14-та доба | 21-ша доба |
| Перекисний гемоліз еритроцитів, % | 5,01±1,18(10) | 14,29±2,94(8)* | 39,06±5,94(8)* | 9,61±0,87(8) | 32,06±6,81(7)** | 15,44±3,22(7)** | 9,69±0,98(8) |
| Супероксиддисмутаза, ум. од. | 1,40±0,05(10) | 1,68±0,11(8)* | 1,65±0,07(8)* | 1,46±0,05(8) | 1,35±0,06(7)** | 1,33±0,03(8)** | 1,34±0,06(8) |
| Церуплазмін, од. активності | 37,08±1,16(10) | 40,52±1,96(8) | 51,41±3,28(8)* | 41,56±0,92(8)* | 23,03±1,37(7)** | 44,68±3,14(6) | 39,96±0,93(8) |

Примітка. У табл. 1 та 2 у дужках наведено кількість тварин у групі, * P<0,05 порівняно зі значеннями у інтактних тварин, ** P<0,05 порівняно зі значеннями у тварин, які не отримували церебрократу.

Таблиця 2. Вплив церебрократу на активність фосфатаз, вміст сіалових кислот і іонів кальцію в нижньощелепній кістці та сироватці крові щурів за умов сумісної дії хронічного емоційно-больового стресу (ЕБС) і травми (M±m)

| Показник | Інтактні тварини (I група) | Тварини, яким моделювали ЕБС і травму (II група) | | | Тварини, яким моделювали ЕБС, травму і вводили церебрократ (III група) | | |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------|-----------------|---------------------------------------------------------------------------|------------------|------------------|
| | | 7-ма доба | 14-та доба | 21-ша доба | 7-ма доба | 14-та доба | 21-ша доба |
| Сироватка крові | | | | | | | |
| Кисла фосфатаза, мкмоль·мл ⁻¹ ·хв ⁻¹ | 0,244±0,029(10) | 0,155±0,031(8) | 0,123±0,012(8)* | 0,200±0,062(8) | 0,045±0,013(8)** | 0,057±0,008(8)** | 0,349±0,162(8) |
| Лужна фосфатаза, мкмоль·мл ⁻¹ ·хв ⁻¹ | 0,138±0,037(10) | 0,113±0,021(8) | 0,169±0,064(8) | 0,413±0,097(8)* | 0,129±0,029(7) | 0,138±0,042(7) | 0,257±0,042(8) |
| Сіалові кислоти, мг/мл | 9,51±0,88(10) | 13,82±0,53(8)* | 18,33±0,76(8)* | 4,79±0,74(8)* | 15,48±1,25(8) | 12,89±2,27(8)** | 6,47±0,87(8) |
| Кальцій, ммоль/л | 1,18±0,06(10) | 1,36±0,15(8) | 0,94±0,08(8)* | 1,04±0,09(8) | 0,86±0,09(8)** | 1,03±0,03(8) | 1,21±0,04(8) |
| Нижньощелепна кістка | | | | | | | |
| Кисла фосфатаза, мкмоль·мл ⁻¹ ·хв ⁻¹ | 0,270±0,010(10) | 0,426±0,058(8) | 0,174±0,008(8)* | 0,103±0,021(8)* | 0,258±0,031(7)** | 0,183±0,018(6) | 0,213±0,038(8)** |
| Лужна фосфатаза, мкмоль·мл ⁻¹ ·хв ⁻¹ | 0,368±0,019(10) | 0,122±0,042(8)* | 0,253±0,010(8)* | 0,161±0,021(8)* | 0,307±0,042(7)** | 0,218±0,020(7) | 0,142±0,013(7) |
| Сіалові кислоти, мг/мл | 16,43±1,79(10) | 137,6±15,47(8)* | 36,60±1,40(8)* | 12,80±1,02(8) | 94,17±17,82(6) | 40,00±3,08(7) | 15,20±2,31(8) |
| Кальцій, ммоль/л | 5,84±0,24(10) | 3,59±0,13(8)* | 4,58±0,13(8)* | 4,92±0,21(7)* | 4,81±0,24(8)** | 5,12±0,14(9)** | 5,79±0,16(8) |

Усе це сприяло оптимізації репаративних процесів у нижньощелепній кістці, що переконливо підтверджено морфологічними дослідженнями. Наприкінці спостереження поблизу ділянки дефекту відмічались осередки новоутвореної дрібнопетлястої губчатої кісткової тканини. Кісткові трабекули мали по поверхні значну кількість остеобластів, а міжтрабекулярні простори були заповнені червоним кістковим мозком. Слід відмітити найбільш значну дію цереброкрасу на 7-му добу. Можна припустити, що в цей термін підсилюється включення Ca^{2+} до кісткової тканини нижньої щелепи внаслідок зменшення його вмісту в сироватці крові. Отримані результати узгоджуються з даними досліджень захисного ефекту цереброкрасу на метаболічні та структурні зміни в нижній щелепі щурів, які зумовлені тільки дією хронічного ЕБС [4].

Таким чином, нами вперше встановлена протекторна дія цереброкрасу на процеси репаративного остеогенезу в кістковій тканині, яка спричинена його антиоксидантними властивостями і стабілізуючим впливом на глікопротеїни і кальцієвий гомеостаз. Виконані дослідження доводять доцільність подальшого вивчення дії цереброкрасу як можливого ефективного засобу для стимуляції остеогенезу. Отримані нами результати поширюють уявлення про загальнометаболічну дію досліджуваного ноотропного препарату на рівні всього організму і підтверджують можливість його застосування для профілактики екстремальних станів, які супроводжуються пошкодженням мембран [12].

T. A. Devyatkina, L. I. Voloshina, V. E. Klusha

CEREBROKRAS CORRECTION OF REPARATIVE OSTEOGENESIS ON THE BACKGROUND OF CHRONIC STRESS

Protective action of cerebrokras — a derivative from 1,4-dihydropyridine — on the processes of reparative osteogenesis in rats in case of combined action of chronic emotional-pain stress and trauma of mandibula was determined. It is stipulated by antioxidant properties of cerebrokras, as well as its stabilizing influence on glycoproteins and calcium homeostasis. The received data extend the idea about general-metabolic action of the investigated nootrop at the level of the whole organism and testify worthwhile of its use for prophylaxis of extreme conditions.

*Ukrainian Medical Dental Academy,
Health Protection Ministry of Ukraine, Poltava*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Баженова Т.Г.* Цереброкрас как корректор нарушений церебральной гемодинамики и кислородного снабжения мозга при острой транзиторной ишемии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Томск, 1994. — 23 с.
2. *Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г. и др.* Перекисное окисление и стресс. — С.-П.: Наука, 1992. — 148 с.
3. *Брусов О.С., Герасимов А.М., Панченко Ю.А.* Влияние природных ингибиторов свободнорадикальных реакций на аутоокисление адреналина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1976. — **ХС**, № 1. — С. 93-98.
4. *Волошина Л.И.* Возможности коррекции ноотропами репаративного остеогенезу при повреждениях нижней челюсти: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Полтава, 1995. — 24 с.

5. Воронина Т.А. Современные проблемы фармакологии ноотропов: состояние и перспективы // Фармакология и токсикология. — 1991. — № 2. — С. 6-10.
6. Девяткина Т.А. Антиоксидантная система при стрессе и изыскание новых антистрессорных средств: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — К., 1990. — 34 с.
7. Дев'яткіна Т.О., Волошина Л.І., Кобізькій О.І. Вплив цереброкрасту на процеси перекисного окислення ліпідів в умовах хронічного стресу. — В кн.: Сучасні проблеми фармакології. Тез. доп. І Нац. з'їзду фармакологів України. — Полтава, 1995. — С. 51-52.
8. Ковалев Г.В. Ноотропные препараты. — Волгоград, 1990. — 367 с.
9. Кресюн В.И. Нарушение обеспечения мозга макрофагами при хроническом стрессе и их коррекция психотропными средствами // Бюл. эксперим.биологии и медицины. — 1993. — **65**, № 4. — С. 339-342.
10. Леонтьев В.К., Петрович Ю.А. Биохимические методы исследования в стоматологии. — Омск, 1976. — 92 с.
11. Меерсон Ф.З., Пожаров В.П., Миняйленко Т.Д. и др. Сопоставление антигипоксического эффекта адаптации к стрессу и курсу электростимуляции // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1993. — **65**, № 4. — С. 339-342.
12. Плотникова Т.М., Фирсов Н.Н., Саратиков А.С. Влияние цереброкраста на функциональное состояние эритроцитов // Эксперим. и клин. фармакология. — 1993. — **56**, № 3. — С. 35-37.
13. Прохончуков А.А., Жижина Н.А., Тигралян Р.А. Гомеостаз костной ткани в норме и при экстремальных воздействиях. — М.: Медицина, 1984. — 200 с.
14. Робу А.И. Стресс и гипоталамические гормоны. — Кишинев: Штиинца, 1989. — 218 с.
15. Тарасенко Л.М., Коваленко Э.Г., Волошина Л.И. Способ определения активности кислот и щелочной фосфатаз в костной ткани. — Рац. предложение № 1731, принято ПГМСИ 20.04.94 г.
16. Тарасенко Л.М., Дев'яткіна Т.О. Активация протеолитических процессов у тканях пародонту за умов дії екстремальних факторів // Фізіол. журн. — 1996. — **42**, №1-2. — С. 110-112.
17. Dubur G.J., Veveris M.M., Weinheimer G. et al. Synthesis and selective vasodilating properties of esters of 2,6-dimethyl-4-(2-difluoromethoxyphenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylic acid // Arzneim Forsch. — 1989. — **39**. — P. 1185-1189.
18. Germane S., Bleidelis E., Rakauskaite I., Klusa V. Neuropharmacological study of IOS-1.1212, a novel dihydropyridine derivative // Proc. Latv. Acad. Sci. — 1991. — **2**. — P. 112-124.
19. Jager F.C. Determination of vitamin E requirement in rats by means of spontaneous haemolysis in vitro // Nutr. Diets. — 1968. — **10**, № 3. — P. 215-223.
20. Khagi Kh., Kletnieks U., Sile V. et al. Antihypoxic effect of IOS-1.1212, Cerebrocast // Proc. Latv. Acad. Sci. — 1992. — **9B**. — P. 84-86.
21. Klusa V., Dubur G., Germane S. et al. Structure and activity peculiarities of Cerebrokrast, a novel type of CNS-modulating 1,4-dihydropyridine derivative // Ibid. — P. 51-55.
22. Shimizu M., Marujama J., Kukita M. et al. On the determination of caeruplasmin and the results of its measurement // J. Biochemistry (Tokyo). — 1961. — **49**, №6. — P.673-684.

Укр. мед. стомат. академія,
М-ва охорони здоров'я України, Полтава

Матеріал надійшов
до редакції 1.06.2000