

УДК 616-831-005.8 : 615.015 : 616-037

**ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НЕЙРОПРОТЕКТОРОВ НА УРОВЕНЬ
ЭКСПРЕССИИ НЕЙРОНАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ В ГИПОТАЛАМУСЕ КРЫС ПРИ
ОСТРОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

**А.С. Губейко¹, В.И. Дунай¹, А.Г. Шляхтун², Е.Ф. Радута², О.В. Титко², И.Н. Катковская²,
В.А. Гуринович², А.Г. Мойсёнок²**

¹*Полесский государственный университет, Пинск*

²*Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларусь, Гродно*

Аннотация. В проведенном эксперименте на крысах линии Wistar показано, что ишемия головного мозга вызывает значимое повышение уровня нейрональной NO-синтазы (*nNOS*) в гипоталамусе, отражая активацию фермента в условиях гипоксии. Пантенол в режиме монотерапии эффективно предотвращал патологическую активацию *nNOS* и поддерживал его уровень на уровне контроля, демонстрируя выраженный нейропротекторный эффект. В то же время комбинации пантенола с сукцинатом аммония и нанокомплексом *Fe+Zn+Se* не обеспечивали снижения *nNOS*, а показатели оставались сопоставимыми с группой ишемии, что может быть связано с неблагоприятными метаболическими взаимодействиями и прооксидантными свойствами компонентов. Таким образом, пантенол проявил наибольшую эффективность в коррекции патологически повышенного уровня *nNOS* при экспериментальной ишемии мозга, тогда как комбинированные схемы терапии характеризовались высокой вариабельностью и требуют дальнейшего изучения.

Ключевые слова: ишемия головного мозга, нейрональная NO-синтаза (*nNOS*), гипоталамус, пантенол, сукцинат аммония, нанокомплекс Fe+Zn+Se, нейропротекция, оксидативный стресс.

Введение. Ишемические повреждения головного мозга, в основе которых лежат снижение гемоперфузии и энергетический дефицит, представляет собой одну из наиболее актуальных проблем неврологической практики [1, 2]. Развитие ишемии инициирует окислительный стресс, митохондриальную дисфункцию и нарушение метаболизма нейромедиаторов, что в конечном итоге обуславливает повреждение и гибель нейронов и клеток глии [2, 3]. При ишемии активируется нейрональная NO-синтаза, что приводит к избыточному образованию оксида азота (NO). В условиях окислительного стресса NO взаимодействует с супероксид-анионом, образуя пероксинитрит – высокотоксичную реактивную форму азота, усугубляющую повреждение клеточных компонентов [4]. Перспективным направлением в разработке средств коррекции ишемических поражений является поиск метаболических нейропротекторов.

В контексте ишемического повреждения пантенол можно рассматривать как стратегический метаболический предшественник, способный влиять на энергетический дефицит, окислительный стресс, стабильность мембран и нейромедиаторный баланс – основные компоненты ишемического каскада. Однако, несмотря на выраженный нейропротекторный потенциал пантенола, его эффективность в режиме монотерапии может быть ограничена в условиях многофакторного патогенеза ишемии. В связи с этим, разработка комбинированных препаратов на его основе, может позволить достичь синергического эффекта за счет воздействия на различные компоненты ишемического каскада. В данном исследовании изучалась влияние пантенола и его комбинаций с сукцинатом аммония и нанокомплексом Fe+Zn+Se на экспрессию *nNOS*, ключевой маркер нитрозативного стресса, в гипоталамусе крыс при экспериментальной ишемии головного мозга.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 40 крысах самцах линии Wistar массой 180–220 г. Животные были разделены на 5 групп по 8 особей: 1 – Контроль, 2 – Ишемия, 3 – Ишемия + пантенол (ПЛ), 4 – Ишемия + комбинация «пантенол + нанокомплекс Fe+Zn+Se (НК)», 5 – Ишемия + комбинация «пантенол + сукцинат аммония (СА)». В качестве субстанций использовали D-пантенол (№ кат. AC232801000, Acros Organics, Бельгия), сукцинат аммония (АО «БЕКТОН», РФ) и нанокомплексы Fe+Zn и Se (НТО «АКТЕХ», Беларусь). Все препараты вводили внутривенно трижды – за 2 дня, за 1 день и за 1 час до моделирования ишемии, в следующих дозах: пантенол – 200 мг/кг, сукцинат аммония – 200 мг/кг, нанокомплекс Fe+Zn+Se – 1 мг/кг.

Моделирование ишемии головного мозга осуществляли путем билатеральной окклюзии общих сонных артерий на 2 ч [5]. В качестве наркоза для животных использовался хлоральгидрат, вводимый внутривенно в дозе 350 мг/кг.

Животных выводили из опыта путем декапитации через 2 часа после проведения операции. Выделенный гипоталамус замораживали в жидком азоте для определения уровня нейрональной *nNOS*.

Для количественного определения уровня *nNOS* в гипоталамусе крыс использовали набор реагентов для иммуноферментного анализа (SunRed Biotechnolgy, КНР). Измерения выполняли в соответствии с инструкциями производителя. Содержание *nNOS* рассчитывали по калибровочной кривой. Результаты выражались в нг/мл гомогената ткани гипоталамуса.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с применением программного обеспечения Prism v.8.0 (GraphPad, США). Нормальность распределения выборки оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Для выявления статистической значимости различий между группами использовали однофакторный дисперсионный анализ и критерий Брауна-Форсайта; для коррекции множественных сравнений использовали процедуру Бенджамина, Кригера и Екутиели. Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5% ($p < 0,05$). Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение показателя в группе, m – стандартная ошибка среднего значения.

Результаты исследования и их обсуждение. Содержание *nNOS* в гипоталамусе крыс существенно варьировало в разных экспериментальных группах (рисунок). В контрольной группе уровень *nNOS* составил $9,58 \pm 0,66$ нг/мл, отражая физиологическое состояние нормы.

В группе с индуцированной ишемией наблюдалось статистически значимое повышение концентрации *nNOS* до $14,27 \pm 0,92$ нг/мл ($p=0,0284$ по сравнению с контролем), что подтверждает активацию экспрессии *nNOS* в условиях церебральной гипоксии.

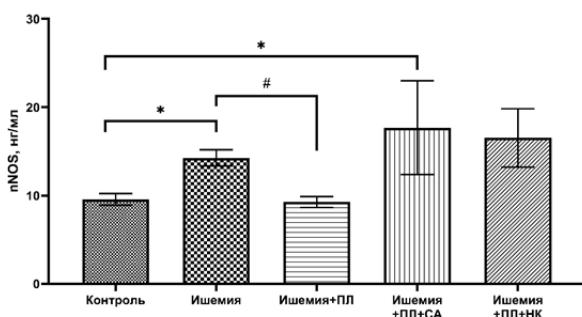


Рисунок – Уровни нейрональной NO-синтазы в гипоталамусе крыс

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; # – $p < 0,05$ по сравнению с группой «Ишемия»

В группе «Ишемия + ПЛ» уровень nNOS оставался на уровне контрольных значений – $9,27 \pm 0,62$ нг/мл ($p < 0,05$ по сравнению с группой ишемии), что указывает на выраженный нейропротекторный эффект пантенола, способного подавлять патологическую активацию nNOS и восстанавливать метаболический баланс в условиях ишемии.

В группе, получавшей комплекс «ПЛ+СА», уровень nNOS был практически в два раза выше, чем в контрольной группе и составил $17,68 \pm 5,32$ нг/мл ($p=0,0339$), что не отличалось от группы с ишемией. Это может свидетельствовать о неблагоприятном взаимодействии компонентов, приводящем к усилению оксидативного стресса и метаболической дестабилизации.

В группе, получавшей комплекс «ПЛ + НК», уровень nNOS составил $16,53 \pm 3,31$ нг/мл, оставаясь на уровне, сопоставимом с показателями группы ишемии. Это может быть обусловлено прооксидантными свойствами переходных металлов, способствующими усилению окислительного стресса и нивелирующими нейропротекторный потенциал пантенола.

Стоит отметить высокую вариабельность уровня nNOS в группах, получавших комбинированную терапию, что может указывать на непредсказуемый и индивидуальный характер ответа на данные комбинации, возможно, связанный с различиями в исходном метаболическом статусе животных.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что пантенол в режиме монотерапии демонстрирует наивысшую эффективность в коррекции патологически повышенного уровня nNOS в гипоталамусе при экспериментальной ишемии головного мозга. Комбинированные схемы терапии требуют дальнейшего изучения с учётом возможных антагонистических взаимодействий между компонентами.

Заключение. Полученные данные демонстрируют, что пантенол в режиме монотерапии обладает выраженным нейропротекторным действием при острой ишемии головного мозга, обеспечивая нормализацию уровня nNOS в гипоталамусе. Комбинированные схемы терапии пантенолом, включающие сукцинат аммония или нанокомплекс металлов, не обеспечили снижения уровня nNOS, а в отдельных случаях способствовали его дополнительному повышению. Это может быть связано с антагонистическими взаимодействиями компонентов и усилением прооксидантной активности, особенно в присутствии железа.

Таким образом, пантенол следует рассматривать как перспективный метаболический нейропротектор при ишемических повреждениях головного мозга. Возможность использования комбинированной терапии нуждается в дальнейшем изучении с учётом биохимической совместимости компонентов и их влияния на ключевые звенья ишемического каскада.

Исследование выполнено в рамках НИР «Витаминно-микроэлементный статус при метаболических нарушениях и его коррекция природными иммуномодуляторами, микроэлементами и производными витаминов» (№ гос. регистрации 20212113) по заданию 4.1.5. «Разработка способов коррекции метаболической патологии природными иммуномодуляторами и антиоксидантами» ГПНИ «Трансляционная медицина» на 2021-2025 годы (подпрограмма «Экспериментальная медицина»).

Список использованных источников

1. Girnar, G.A. Cerebral ischemic stroke and different approaches for treatment of stroke / G.A. Girnar, H.S. Mahajan // Futur J Pharm Sci. – 2021. – Vol. 7, № 134 – Р. 1–10. doi: 10.1186/s43094-021-00289-1.

2. Maksimovich, N. Ye. Changes in the pool of amino acids during cerebral ischemia. Review. / N. Ye. Maksimovich, E.I Bon // Clin Trials Clin Res. – 2024. – Vol. 3, №2 – P. 1–17. doi:10.31661/gmj.v12i.2993.
3. Sun, B. Short review on advances in early diagnosis and treatment of ischemic stroke / B. Sun, Z. Wang // Galen Med J. – 2023. – Vol. 12. – P.1–13. doi: 10.31661/gmj.v12i0.2993.
4. Saini, V. Global epidemiology of stroke and access to acute ischemic stroke interventions / V. Saini, L. Guada, D.R. Yavagal // Neurology. – 2021. – Vol. 16, № 97. – P.6–16. doi: 10.1212/WNL.0000000000012781.
5. Yan ML. A rodent model for chronic brain hypoperfusion related diseases: permanent bilateral occlusion of the common carotid arteries (2VO) in rats / M.L. Yan, J. Ai // Bio Protoc. – 2018. – Vol. 8, № 1. – Art. e2668. doi: 10.21769/BioProtoc.2668.