

УДК 616.831.4-005.4-092.9:577.152.1

ВЛИЯНИЕ D-ПАНТЕНОЛА И ЕГО КОМБИНАЦИЙ НА УРОВЕНЬ ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ И НЕЙРОНАЛЬНОЙ ИЗОФОРМ NO-СИНТАЗЫ В ГИПОТАЛАМУСЕ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДВУХЧАСОВОЙ 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. Мойсеёнок²**

¹Полесский государственный университет,

²Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси

Ишемическое повреждение головного мозга сопровождается выраженной активацией оксидативных и нитрозативных процессов, которые формируются уже в первые часы после нарушения мозгового кровотока [1]. Нитрозативный стресс вызывает дисрегуляцию метаболизма оксида азота (NO), в частности активации изоформ NO-синтазы [2]. Повышение активности iNOS и nNOS приводит к длительной и неконтролируемой продукции NO, что усиливает нитрозативный стресс, образование пероксинитрита и повреждение клеточных структур [3]. Гипоталамус является одной из наиболее метаболически активных структур головного мозга, что обуславливает его высокую чувствительность к ишемическому повреждению и делает его важным объектом для изучения NO-зависимых механизмов нейропротекции [4]. Для коррекции дисбаланса изоформ NO-синтаз перспективным средством является D-пантенол [5]. Этот метаболический нейропротектор участвует в синтезе коэнзима А и проявляет антиоксидантные и мембраностабилизирующие свойства [6]. Особый интерес представляет изучение D-пантенола как в монотерапии, так и в комбинации с сукцинатом аммония, а также с наноконкомплексом, содержащим железо, селен и цинк – микроэлементы, участвующие в работе антиоксидантных ферментов.

Целью исследования является оценка способности D-пантенола, комбинации D-пантенола с сукцинатом аммония, а также комбинации D-пантенола с наноконкомплексом (Fe + Se + Zn) снижать уровень nNOS и iNOS в гипоталамусе крыс при ишемии головного мозга крыс.

Исследование проводилось в соответствии с «Руководством по работе с лабораторными животными при проведении доклинических исследований», принятым Коллегией Евразийской экономической комиссии (14 ноября 2023 г. № 33). Дизайн эксперимента одобрен комиссией по биоэтике ГП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси».

Экспериментальная модель была выполнена на 40 самцах крыс линии Wistar CRL: (WI) WUBR массой 180–220 г. Моделирование ишемии головного мозга осуществляли путем перевязывания обеих общих сонных артерий у крыс на 2 часа [7]. Животных выводили из опыта путем декапитации через 2 часа после проведения операции.

Животные были разделены на 5 групп по 8 особей: 1 – Контроль, 2 – Ишемия, 3 – Ишемия + пантенол (ПЛ), 4 – Ишемия + комбинация «пантенол + наноконкомплекс 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 «ВЕКТОН», РФ) и наноконкомплекс Fe+Zn и Se (НТО «АКТЕХ», Беларусь). Все препараты вводили внутривентрально 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, наноконкомплекс Fe+Zn+Se – 1 мг/кг.

Для количественного определения уровня nNOS и iNOS в гипоталамусе крыс использовали набор реагентов для иммуноферментного анализа (SunRed Biotechnology, КНР). Измерения выполняли в соответствии с инструкциями производителя. 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 отличий между группами использовали однофакторный дисперсионный анализ и критерий Брауна-Форсайта; для коррекции множественных сравнений использовали процедуру Бенджамини, 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.

Уровень iNOS в гипоталамусе не претерпевал статистически значимых изменений во всех экспериментальных группах. В контрольной группе содержание iNOS составило $10,00 \pm 3,5$ нг/мл. При ишемии наблюдалось незначительное снижение показателя до $8,99 \pm 1,40$ нг/мл. Введение D-пантенола на фоне ишемии повысило уровень iNOS до $10,50 \pm 1,86$ нг/мл, что также не отличалось от контрольных значений. В группах с комбинированной терапией уровень iNOS составил $11,56 \pm 4,18$ нг/мл (Ишемия + ПЛ + СА) и $10,34 \pm 3,13$ нг/мл (Ишемия + ПЛ + НК), что не имело статистически значимых различий по сравнению с контролем и группой ишемии. Таким образом, уровень iNOS в гипоталамусе оставался стабильным во всех исследованных группах.

В отличие от iNOS, содержание nNOS в гипоталамусе существенно варьировало в разных экспериментальных группах. 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, что подтверждает активацию экспрессии nNOS в условиях церебральной гипоксии. В группе «Ишемия + ПЛ» уровень nNOS оставался на уровне контрольных значений – $9,27 \pm 0,62$ нг/мл, 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 составил $17,68 \pm 5,32$ нг/мл, что практически вдвое выше контрольных значений и не отличается 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 снижению нейропротекторного потенциала пантенола.

Таким образом, при ишемии наблюдается разнонаправленная динамика iNOS и nNOS: уровень iNOS остается стабильным, тогда как nNOS резко возрастает. Пантенол в монотерапии нормализует показатель nNOS до контрольных значений, не оказывая значимого влияния на iNOS. Комбинации пантенола с сукцинатом аммония и с наноконкомплексом, напротив, не снижают уровень nNOS, а сопровождаются его дополнительным повышением при стабильном уровне iNOS.

Список использованных источников

1. Oxidative stress in ischemic brain damage: mechanisms of cell death and potential molecular targets for neuroprotection / H. Chen, S. Zhao, G. Zhang [et al.] // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2020. – Vol. 32, № 8. – P. 567–589. – DOI: 10.1089/ars.2019.7881.
2. S-nitrosylation of caspase-3 is a key mediator of neuronal apoptosis in cerebral ischemia / Y. Zhou, L. Wang, T. Sun [et al.] // *Nature Neuroscience*. – 2022. – Vol. 25, № 4. – P. 498–510. – DOI: 10.1038/s41593-022-01048-y.
3. NO-mediated NLRP3 inflammasome activation in microglia exacerbates ischemic injury / M. Endres, K. Gertz, P. Mergenthaler [et al.] // *Nature Communications*. – 2023. – Vol. 14. – Art. 1258. – DOI: 10.1038/s41467-023-36876-4.
4. Spontaneous expression of inducible nitric oxide synthase in the hypothalamus and other brain regions of aging rats / D. Vernet, J. N. Ferrini, V. C. Giamarellos [et al.] // *Endocrinology*. – 1998. – Vol. 139, № 7. – P. 3254–3261. – DOI: 10.1210/endo.139.7.6119.
5. Nanoparticle-targeted NOS modulation in ischemic stroke / R. Zhang, L. Liu, M. Smith [et al.] // *Science Advances*. – 2023. – Vol. 9, № 12. – Art. eadd4082. – DOI: 10.1126/sciadv.add4082.
6. Modulating nitric oxide: Implications for cytotoxicity and cytoprotection / I. Belenichev, N. Bukhtiyarova, S. Levich [et al.] // *Antioxidants*. – 2024. – Vol. 13, № 5. – Art. 504. – DOI: 10.3390/antiox13050504.
7. Моделирование глобальной ишемии головного мозга путем билатеральной окклюзии сонных артерий у бодрствующих гипертензивных крыс (SHR-SP) / Н. Н. Лобанова, И. В. Силкина, Т. С. Ганышина [и др.] // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2008. – Т. 146, № 12. – С. 627–631.