

THE CHANGES IN FIBRINOLYTIC SYSTEM OF THE BLOOD IN THE PERIOPERATIVE PERIOD OF TRANSURETHRAL RESECTION OF THE PROSTATE*O.S. Fedoruk, V.I. Zaytsev, I.I. Iliuk, K.A. Vladychenko, V.V. Vizniuk*

Abstract. The authors have investigated the dynamics of the parameters for the fibrinolytic activity of the blood serum in operative treatment of patients with benign prostate hyperplasia. Surgical interference was performed to the extent of transurethral resection of the prostate gland. The peculiarities of the state of fibrinolysis during the intraoperative and post-operative periods have been ascertained. The state of fibrinolytic activity of the blood serum in patients with benign prostate hyperplasia and the control group, comprising men of identical age, has been analyzed.

Key words: benign prostate hyperplasia, transurethral resection, fibrinolytic activity of the blood.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. Ю.Є. Роговий

Buk. Med. Herald. – 2014. – Vol. 18, № 1 (69). – P. 131-134

Надійшла до редакції 13.11.2013 року

© О.С. Федорук, В.І. Зайцев, І.І. Люк, К.А. Владиченко, В.В. Візнюк, 2014

УДК 616-005.4:599.323.4:615.016

*O.A. Khodakovskiy, A.Y. Khodakovskiy***CORRECTIVE INFLUENCE OF ADEMOL ON METABOLISM OF NITROGEN MONOXIDE IN THE BRAIN OF THE RATS WITH MODELING CEREBRAL ISCHEMIA**

Scientific experimental clinic of Pirogov Memorial Medical University, Vinnitsya

Summary. In experiments on the rats with model of acute disorder of encephalic circulation (bilateral carotid occlusion) it was established that introduction of derivate of adamantan 1-adamantylethyloxy-3-morpholino-2 propanol hydrochloride (under conventional name ademol) in dose 2 mg/kg intraabdominal in treatment mode (in an hour after insult and further 1 time a day after every 24 hours during 21 days of cerebral ischemia) better than cerebroprotector citicoline provides decreasing of activity of general NO-

synthase (NOS) in the rats' brain, on which indicated reduced content of stable metabolite of NO and preservation of L-arginine (L-Arg) pool. Such effect of ademol can be one of the key mechanisms of its protective influence on ischemic neurons of the brain and indicate a perspective for creation on its base a new cerebroprotector agent.

Key words: ademol, ischemic insult, metabolism of nitrogen monoxide, citicoline.

Introduction. Nowadays the role of nitrogen monoxide (NO) was convincingly proved in pathogenesis of ischemic damaging of the brain's neurons [1, 3, 9]. According to the present conceptions neurodestruction of the ischemic genesis is accompanied with a development of complex pathobiochemical cascades in the neurons. Glutamate exitotoxicity and excessive activation of NDMA-receptors lead to the unbalance in the energy providing of the cells, formation of mitochondrial dysfunction, resulting in hyperproduction of active forms of oxygen (AFO), NO and products of its metabolism, which eventually leads to activation of apoptosis [6]. The most known factor, which is able to start up in neurons apoptotic program is NO – one of the key signal molecules, regulating functions of cardiovascular and nervous systems of the organism. Participation of NO in damaging and death of neurons has its own specifics and is defined by isoforms of NO-synthase (NOS) and also by a variety and a stage of development of insult. Excessive amount of AFO (superoxide radical and hydroxyl radical) attacks NO, resulting in an avalanche formation of products of NO metabolism,

first of all peroxynitrite (ONOO⁻) which is the main factor of realization of nitrosative stress [8]. Under condition of nitrosative stress, modulation of NMDA-receptors, depression in the neurons of mitochondrial ferments activity and fragmentation of nucleonic acids (neuroapoptosis) takes place [5, 6].

One of the leading mechanisms of protective action of modern cerebroprotective compound is its modulating influence on metabolism of NO, mostly on nitrosative stress development in the cerebral tissues [3, 9].

Therefore a search of new components, protective action on neurons of the brain of which would depend on corrective influence on functioning of monoxide nitrogen's system is an urgent task of experimental pharmacology. One of such deserving compounds, in our opinion can become derivate of adamantan 1-adamantylethyloxy-3-morpholino-2 propanol hydrochloride, conventional name ademol. It was synthesized in Institute of Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine under supervision of academician M.O. Lozinskiy. Earlier we had done pharmacological screening of 70

© O.A. Khodakovskiy, A.Y. Khodakovskiy, 2014

compounds of present chemical series and found that ademol is a leader in antihypoxic, antiischemic and cerebroprotective influence [4]. The data indicating that it is a low-affinity, noncompetitive antagonist of NDMA-receptors of ionophore complex of pyramidal neurons of hippocampus with very quick blockade/deblockade of NDMA-receptors became an impulse for intensive investigation of cerebroprotective action of ademol [7]. Therefore, ademol, by the means of selective reducing of excessive activation of NDMA-receptors, can provide normal functioning of neurons of penumbra area at ischemia of the brain due to an increase of the average duration of impulses of recurrent transition of activated NDMA canal in blockade form and vice versa. Analyzing the mentioned data, an assumption can be made that ademol, under condition of pathological activation of glutamate receptors, may exhibit cerebroprotective effects which makes it perspective for using as prophylaxis and treatment of ischemic damage of the brain. Experimental testing of these assumptions has proved the efficiency of ademol under condition of acute cerebral ischemia. In particular, a therapeutic injection of ademol to rats with acute disorder of the cerebral circulation (ADCC) decreased destructive changes in the neurons and corrected the state of acid-base balance in the brain [5]. Integrative indices that allow evaluating the quality of protective influence of potential neuroprotector on ischemic brain is decreasing of mortality and quick elimination of neurological deficiency. Whereas under condition of the acute cerebral ischemia it was an excessive activation of NDMA-receptors which proved to be one of the mechanisms of hyperexpression of inducible NOS, which is accompanied by the development of nitrosative stress and, considering positive modulating influence of ademol on NDMA-receptors it seemed appropriate to investigate dependence of realization of its cerebroprotective features on its influence on metabolism of NO.

The aim of this research was to investigate modulating influence of ademol on the dynamics of functional changes in the system of monoxide nitrogen in the brain of the rats at experimental cerebral ischemia, as one of the possible mechanisms of its cytoprotector effects.

Material and methods. The investigation was conducted on male Vistar rats weighing 160-170 g, which were housed in the vivarium of the Pirogov Memorial Medical University in Vinnitsya on a standard water-nutritious diet in natural illumination and free access to water and food. During our work with laboratory animals we followed the guidelines of State pharmacological centre of Ministry of Health and requirements of bioethics according to National "General ethic principles of the experiments on the animals" (2001), in compliance with the status of "European Convention for the protection of vertebrate animals, used for experimental and other scientific purposes" (Strasburg, 1985). Compliance to the above mentioned requirements was verified by an expert conclusion of bioethics' committee of Pirogov Memo-

rial Medical University in Vinnitsya № 5 (28.03.2011). All traumatic manipulations and euthanasia of the animals by means of decapitation were performed under condition of propofol anesthesia («Fresenius Kabi», Austria). An experimental model of ADCC was created by means of bilateral ligation of common carotid arteries up to the bifurcation [2]. Ligatures under the vessels were settled under propofol anesthesia (60 mg/kg intraabdominally) and then tightened at the moment of anesthesia recovery. Experimental therapy of acute cerebral ischemia by ademol was conducted with its maximal effective dose 2 mg/kg intraabdominally, which had been started 1 hour after bilateral carotid occlusion and than 1 time a day during 21 days of ADCC. Reference-drug citicoline (250 mg/kg) was injected in a treatment mode by analogical scheme. For evaluation of dynamic of nitrosative stress' processes in the ischemic brain of the animals (decapitation under propofol anesthesia) on the 4th and 21st day after modeling of ADCC the brain was withdrawn. Tissues of the brain were homogenized in the cold saline isotonic medium at the temperature +4⁰C using glass homogenizer with ratio tissue-saline solution 1:40. Protein-free extract was made by means of adding an exactly weighted homogenate of heart's tissues to chloric acid (0,6 M) with further neutralization of 5 M potassium carbonate. Stable metabolites of NO in the brain were calculated by the content of nitrates which react with Griss' reagent. For evaluation of general activity of NOS spectrophotometric method was used. Measurements of optic density were carried out on spectrophotometer of Libra S32 PC produced on Biocrom Ltd (UK). Method of evaluation of general activity of NOS is based on stereo chemical oxidation of NADPH in reaction's process of formation of NO from L-arginine (L-Arg). Decreasing of NADPH is equimolar with amount of forming NO which was registered spectrophotometricly by wavelength 340 nm. Content of L-Arg in the brain was evaluated by method of thin-layer chromatography with further spectrophotometry of eluate [2]. Results were processed statistically by means of program Statistica 6,0 with using of Student t-test number.

Results and discussion. In the course of conducted researches it was established, that bilateral carotid occlusion led to an unbalance in NO system of the rats' brain on the 4th day of the experiment. Increasing of general activity of NOS and of the level of stable metabolites of nitrogen monoxide respectively in 2,3 and 2,6 times ($p < 0,05$) indicated this fact. Parallel decreasing of amount of L-Arg in average on 93,07 % (table 1) pointed to the fact of hyperproduction of nitrogen monoxide as well. In our opinion at this stage of cerebral ischemia which clinically corresponds the acute period of ischemic insult excessive increasing of NO formation mostly occurs at the expense of activation of calcium dependent NOS. It is fully consistent with experimental and clinical data which indicate a special periodicity of expression of different isoforms of NOS in corre-

Table 1

**Indices of NO metabolism in the rats' brain in the acute period of ischemic insult (4th day)
on the background of therapeutic intraabdominal injection of ademol (2mg/kg)
and citicoline (250 mg/kg) (M±m, n=10)**

Experimental group	NOS, nmol/g tissues/min	Stable metabolite NO mcmol/l	L-Arg, nmol/g tissues
Intact animals	18,38±0,91	17,89±0,51	6,93±0,24
ADCC+ 0,9 % NaCl (control)	42,85±1,64* (+133,13 %)	49,05±1,39* (+174,18 %)	0,48±0,02* (-93,07 %)
ADCC + ademol	27,61±1,09*#^ (+50,22 %) [-35,57 %]	27,74±0,62*#^ (+55,06 %) [-43,45 %]	3,43±0,25*#^ (-50,51 %) [+614,58 %]
ADCC + citicoline	36,90±1,01*# (+100,76 %) [-13,89 %]	35,51±0,49*# (+98,49 %) [-27,6 %]	2,22±0,11*# (-67,97 %) [+362,7 %]

Notice. ADCC – acute disorder of cerebral circulation; statistically significant differences (p<0,05): * – with index of intact animals, # – with control pathology, ^ – with citicoline effect, • – relatively to the 4th day; in round brackets – changes (%) in relation to index of intact animals, in square brackets – in relation to index of control group

Table 2

**Indices of NO metabolism in the rats' brain in the acute period of ischemic insult (21st day)
and on the background of therapeutic intraabdominal injection of ademol (2mg/kg)
and citicoline (250 mg/kg) (M±m, n=10)**

Experimental group	NOS, nmol/g tissues/min	Stable metabolite NO mcmol/l	L-Arg, nmol/g tissues
Intact animals	18,38±0,91	17,89±0,51	6,93±0,24
ADCC without treatment (control)	36,93±1,19* (+100,92 %)	41,25±0,60* (+130,58 %)	0,75±0,03* (-89,18 %)
ADCC + ademol	25,03±1,14*#^ (+36,32 %) [-32,22 %]	19,06±0,45*#^ (+6,54 %) [-53,79 %]	4,79±0,19*#^ (-30,88 %) [+538,66 %]
ADCC + citicoline	29,30±1,27*#^ (+59,41 %) [-20,66 %]	18,94±0,41*#^ (+5,87 %) [-54,08 %]	4,88±0,05*#^ (-29,58 %) [+550,66 %]

Notice. ADCC – acute disorder of cerebral circulation; statistically significant differences (p<0,05): * – with index of intact animals, # – with control pathology, ^ – with citicoline effect, • – about the 4 day; in round brackets – changes (%) in relation to index of intact animals, in square brackets – in relation to index of control group

sponding periods of the insult. Thus expression of this type of NOS is connected with excessive activation of NDMA-receptors and development of glutamate excitotoxicity in the first 4 days of ischemia. Its peak activity reaches on the 4th day of ischemia. In regenerative postischemic period (day) NO hyperproduction is caused by an activation of mostly inducible NOS [1].

Course therapy of the rats with acute cerebral ischemia by ademol (2mg/kg intraabdominal) and less degree by citicoline (250 mg/kg intraabdominal) in acute period of ADCC created positive modulating influence on NO cycle and helped normalization of content of investigated indices. Thus in indicated period the level of activity of NOS in the rats' brain and level of NO on the background of injection by derivate of adamantan decreased in relation to the control group in average respectively by 35,57 and 43,45 % (p<0,05) on the 4th day of observation, and

probably exceeding reference-drug by 1,3 times. Indirectly an increased amount of L-Arg in the animals' brain indicated a decrease of NO production. At the same time ademol probably dominated citicoline by 1,54 times (table 1).

Similar corrective influence of investigated compounds on NOS activity, content of stable metabolites of nitrogen monoxide and L-Arg in the rats' brain by present pathology was observed in regeneration period. What is more ademol probably dominated citicoline with ability to decrease NOS activity (on the average by 14,6 %) at the 4th day and at the end of the term of observation (table 2).

In our opinion ademol doesn't have direct inhibitor influence on the expression of NOS in the brain at the appropriate term of acute cerebral ischemia. This influence is indirect due to its modulating action on NDMA-receptors mostly in early period of insult when an activation of the calcium depended

NOS prevails. Also indirectly, due to decreasing of excessive NO formation, ademol can blockade synthesis of peroxynitrate and influence on neuroapoptosis realization mechanisms.

Such corrective influence of ademol on functioning of NO system in the brain under condition of its ischemic injury as well as the ability to affect the functional state of NDMA-receptors, can be one of the key mechanisms of its cerebroprotective influence.

Conclusion

Thereby the acute period of insult modeling disorder of cerebral circulation is accompanied with an unbalance in functioning of nitrogen monoxide system in the tissues of the brain due to more than double NOS activation accompanying an increase of the level of NO stable metabolites respectively by 2,7 times and exhausting of reserves of L-Arg on the average by 93,07 % ($p < 0,05$). Analogical changes were observed in regenerative period of acute cerebral ischemia. Original derivate of adamantan 1-adamantylethyloxy-3-morpholino-2 propanol hydrochloride (conventional name ademol (2 mg/kg intraabdominal) is better than reference-drug citicoline (250 mg/kg intraabdominal) contributed to a regeneration of normal functioning of NO cycle in ischemic brain of the rats both in acute and in regenerative periods of insult. Corrective influence of investigated compounds on NO metabolism manifested by decreasing activity of NOS and amount of stable metabolites of NO and preservation of pool of L-Arg. Such effect of investigated derivate adamantan can be one of the key mechanisms of its protective influence on ischemic neurons of the brain.

Prospects for further studies. Ademol can be considered as an advanced cerebroprotector. It is advisable to carry out a further study of the effect of

the derivative on the processes of oxidative stress in brain structures in ischemic stroke.

References

1. Никонов В.В. Острый ишемический инсульт: сравнительная характеристика цитиколинов / В.В. Никонов, И.С. Зозуля, Т.В. Мироненко // Мед. неотложных состояний. – 2012. – № 3 (42). – С. 28-32.
2. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р.У. Хабриева. – [2-е изд., перераб. и доп.]. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.
3. Трошин В.Д. Острые нарушения мозгового кровообращения: руководство / В.Д. Трошин, А.В. Густов. – [3-е изд., перераб. и доп.]. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. – 432 с.
4. Ходаківський О.А. Скринінг церебропротекторного ефекту серед нових похідних адамантану в умовах експериментальної ішемії головного мозку / Г.І. Степанюк, Ю.В. Короткий, М.О. Лозинський // Фармакол. та лікар. токсикол. – 2010. – № 3 (16). – С. 8-11.
5. 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. морфол. – 2010. – Т. 16, № 4. – С. 787-790.
6. Ходаківський О.А. Оцінка впливу експериментальної терапії адемолом на інтенсивність перебігу деструктивних змін у мембранах нейронів у монгольських піщанок в умовах гострої церебральної ішемії // Вісн. морфол. – 2011. – Т. 17, № 1. – С. 62-65.
7. Ходаківський О.А. Порівняльна оцінка впливу похідних адамантану сполук ЮК-1 та ЮК-4 на активність NMDA-рецепторів / О.А. Ходаківський // Клін. фармація. – 2011. – Т. 15, № 4. – С. 60-63.
8. Ходаківський О.А. Вплив адемолу на показники обміну NO в серці щурів із модельним інфарктом міокарда / О.А. Ходаківський // Укр. біохім. ж. – 2013. – Т. 85, № 3. – С. 80-84.
9. 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 J. – 2012. – Vol. 6, № 1. – P. 22-28.

КОРРИГУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ АДЕМОЛА НА ОБМЕН МОНООКСИДА АЗОТА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС С МОДЕЛЬНОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ

А.А. Ходаковский, А.И. Ходаковский

Резюме. В опытах на крысах с модельным острым нарушением мозгового кровотока (билатеральная каротидная окклюзия) установлено, что введение производного адамантана 1-адамантилетилокси-3-морфолино-2-пропанол (условное название адемола) в дозе 2 мг/кг внутривентриально в лечебном режиме (через 1 час после инсульта и далее один раз в сутки через каждые 24 часа, в течение 21 дня церебральной ишемии, лучше цитиколина способствует уменьшению в головном мозге крыс активности общей NO-синтазы, на что указывало снижение уровня стабильных метаболитов NO и сохранение пула L-аргинина. Подобный эффект адемола, может быть одним из ключевых механизмов его защитного действия на ишемизированные нейроны мозга и указывает на перспективу для создания на его основе нового церебропротекторного средства.

Ключевые слова: адемола, ишемический инсульт, метаболизм монооксида азота, цитиколин.

КОРИГУВАЛЬНИЙ ВПЛИВ АДЕМОЛУ НА ОБМІН МОНООКСИДУ АЗОТУ В ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ ІЗ МОДЕЛЬНОЮ ЦЕРЕБРАЛЬНОЮ ІШЕМІЄЮ

О.А. Ходаківський, А.І. Ходаківський

Резюме. У дослідях на щурах із модельним гострим порушенням мозгового кровотоку (білатеральна каротидна оклюзія) встановлено, що введення похідного адамантану 1-адамантилетилокси-3-морфолино-2-пропанол

(умовна назва адемом) у дозі 2 мг/кг внутрішньоочеревинно в лікувальному режимі (через 1 годину після інсульту та надалі один раз на добу через кожні 24 год, упродовж 21 доби церебральної ішемії, ліпше, ніж церебропротектор цитиколін сприяє зменшенню в головному мозку шурів активності загальної NO-синтази, на що вказувало зниження вмісту стабільних метаболітів NO та збереження пулу L-аргініну. Подібний ефект адемоу, може бути одним із ключових механізмів його захисної дії на ішемізовані нейрони мозку і вказує на перспективу для створення на його основі нового церебропротекторного засобу.

Ключові слова: адемом, ішемічний інсульт, метаболізм монооксиду азоту, цитиколін.

Науково-експериментальна клініка
Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова

Рецензент – проф. І.І. Замовський

Buk. Med. Herald. – 2014. – Vol. 18, № 1 (69). – P. 134-138

Надійшла до редакції 26.12.2013 року

© О.А. Khodakovskiy, А.У. Khodakovskiy, 2014

УДК 611.82-053.13:616.832-053.13

В.С. Школьніков, Ю.Й. Гумінський, В.О. Тихолаз

ПОРІВНЯННЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ СЕГМЕНТІВ СПИННОГО МОЗКУ ПЛОДА ЛЮДИНИ ЗІ СПИННОМОЗКОВОЮ ГРИЖЕЮ ТА ПЛОДІВ ЛЮДИНИ БЕЗ АНОМАЛІЙ РОЗВИТКУ

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Резюме. У роботі представлені результати дослідження морфометричних параметрів та структури сегментів спинного мозку плодів людини без аномалій розвитку центральної нервової системи порівняно з плодом людини з гідроцефалією та мієломенінгоцеле. Встановлені відмінності не тільки у величинах морфо-

метричних параметрів, а й у внутрішній структурі окремих сегментів спинного мозку.

Ключові слова: спинний мозок, морфометричні параметри, гідроцефалія, спинномозкова грижа, мієломенінгоцеле.

Вступ. Пре- і перинатальні ураження нервової системи в дітей є однією з найбільш актуальних медико-соціальних проблем сучасної неврології та педіатрії, що зумовлено як високою смертністю дітей раннього віку з пре- і перинатальним ураженням центральної нервової системи (ЦНС), так і значною питомою вагою цієї патології у структурі дитячої смертності або інвалідності [15].

Частота поширеності природжених вад ЦНС варіює залежно від етнічного характеру, популяції, критеріїв діагностики та тривалості медичного спостереження [14]. Загальна кількість усіх уроджених вад розвитку сягає 5,5 %, з них біля 25 % становлять вади розвитку ЦНС [5, 6]. За даними Зозулі Ю.А. та Орлова Ю.А. [2001], в Україні у 2001 році народилося близько 400 тис. дітей, з них 48 тис. мали природжені вади. Проте Котова Н. В. [2012] вказує, що в Україні щороку народжується близько 12 тис. дітей із уродженими вадами розвитку та спадковими хворобами.

Відомо, що незрощення хребта (spina bifida) – це вада розвитку хребта, яка часто поєднується з грижею оболонки та речовини спинного мозку, що можуть проникати в цей дефект. Частота spina bifida коливається від 1 до 2 на 1000 новонароджених, біля 75 % усіх форм spina bifida складає мієломенінгоцеле (spina bifida cystica), що є найбільш тяжкою формою, за якої через

дефект хребта виходить частина спинного мозку [2]. Приблизно у 85 % плодів із spina bifida розвивається і гідроцефалія [11].

Первісною метою науковців та клініцистів, що займаються проблемою уроджених аномалій, є зниження частоти первинної інвалідності дітей з пре- та перинатальними порушеннями ЦНС шляхом розробки критеріїв їх ранньої діагностики із застосуванням високоінформативних програм нейровізуалізації ЦНС плода [5]. У той же час підтвердження дефекту розвитку нервової трубки є показом для переривання вагітності, але сучасні методи діагностики не є абсолютними. Вони частіше діагностують сам факт наявності дефекту, тому не завжди є можливість уточнити ступінь його тяжкості. Також ступінь залучення у патологічний процес нервових структур вважається визначальним для прогнозу. При мієломенінгоцеле навіть хірургічна допомога не забезпечує високої якості життя, дитина буде інвалідом, не рідко тяжким [3].

Тому, на наш погляд, більш глибоке дослідження структур ураженого спинного мозку плодів людини при spina bifida (мієломенінгоцеле) та порівняно з плодами без аномалій розвитку є актуальним. При цьому, на жаль, такі дані практично відсутні в доступній літературі.

Мета дослідження. Вивчити структуру і морфометричні параметри сегментів спинного