

**УДК 612.82:612.014.4**

**АНАЛІЗ ЗМІН МАСИ ТІЛА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЩУРІВ  
ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО ВВЕДЕННЯ ГАММА-ГІДРОКСИБУТИРАТУ ПІСЛЯ  
ПЕРЕДАВЛЮВАННЯ СІДНИЧНОГО НЕРВА**

*Родинський О.Г., Демченко Т.В.*

*ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Дніпропетровськ, Україна  
E-mail: tatiana\_mashko@mail.ru*

Встановлено, що в умовах хронічного введення гамма-гідроксибутирату (ГГОБ) натрію протягом чотирьох тижнів після одностороннього передавлювання сідничного нерва у щурів, спостерігалася відсутність класичного зниження маси тіла - так званої першотижневої «відповіді» на денервацію, а навпаки - відбувалося збільшення маси тіла експериментальних тварин не лише під час застосування ГГОБ, але і у віддалені терміни після припинення його використання. Розглядаються вірогідні механізми явищ, що спостерігались.

**Ключові слова:** гамма-гідроксибутират натрію, сідничний нерв, маса тіла, денервація, сила м'язів.

**ВСТУП**

Гамма-гідроксимаєляна кислота (ГГОМК) є близьким структурним аналогом гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК) – гальмівного нейропередатчика в ЦНС. Натрієва сіль ГГОМК (гамма-гідроксибутират, ГГОБ) легко перетинає ГЕБ, перетворюючись на ГАМК [1]. Слід відмітити, що в фармакологічній номенклатурі, прийнятої в СРСР, ГГОБ раніше називався не гамма-гідрокси-, а гамма-оксибутиратом (ГОБ). Як природна ендогенна сполука з елементами ноотропної, антигіпоксично-антиоксидантної, органопротективної [2, 3] та антиноцицептивної активності [4-6], здатністю діяти як несинаптичний трофічний фактор [7], ця сполука відповідає усім тим критеріям, поєднання котрих, на наш погляд, могло б сприяти процесам посттравматичного відновлення. Виявлена нами раніше [8] здатність ГГОБ прискорювати відновлення сили довільних м'язових скорочень не лише травмованої кінцівки, але і збільшувати силу м'язів на контралатеральному боці за умов його хронічного введення щурам після одностороннього травмування сідничного нерва, ще більше підігріває інтерес до цієї сполуки. Вплив ГГОМК, очевидно, реалізується через ряд механізмів: вона є агоністом ГАМК<sub>B</sub>-рецепторів; вона може перетворюватися на ГАМК [9]. В той же час ГГОМК здатна діяти по ГАМК-незалежному механізму за рахунок власних рецепторів [10]. Однак механізми дії ГГОМК залишаються до кінця не вивченими.

В літературі зустрічаються дані щодо анаболічної дії ГГОМК за нормальних умов [11], тоді як питання щодо анаболічного впливу ГАМК або ГГОМК за умов денервації залишається відкритим. Виходячи з цього, метою даної роботи було

виявлення наявності чи відсутності анаболічного впливу ГГОБ в посттравматичний період при хронічному застосуванні та у віддалений термін після його припинення.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експерименти проведені на молодих білих щурах самцях лінії Вістар відповідно з існуючими міжнародними вимогами і нормами гуманного відношення до тварин, яких було поділено на 2 групи. В першу групу увійшли контрольні тварини ( $n=7$ ) з експериментальною травмою (однобічне передавлювання сідничного нерва), але без фармакологічної корекції. Щурам другої групи ( $n=5$ ), починаючи з 1-ї доби після аналогової травми та впродовж наступних 4-х тижнів вводили ГГОБ (внутрішньоочеревино, щоденно, в дозі 100 мг/кг маси тварини). Така схема введення обґрунтована тим, що перші тижні після нанесення травми периферичного нерва є критичними часом метаболічних перебудов для процесу функціонального відновлення [12].

Слід зазначити, що вихідна маса тіла тварин (до операції) в обох групах не мала достовірної різниці ( $p>0,05$ ) та склала, в середньому, 212 г. Обидві групи тварин утримувались у віварію за нормальних фізіологічних умов на звичайному раціоні харчування і питному режимі. Щоденно зранку у щурів контрольної та експериментальної груп (не раніше, ніж через 24 години після останньої ін'єкції ГГОБ) протягом 4-х тижнів після операції, а також у віддалені терміни після неї (10-й та 12-й тижні) тобто через 6 та 8 тижнів після завершення введення ГГОБ, проводили вимірювання маси тіла за допомогою електронних вагів типу ТВЕ-2,1-0,01(найвищий клас точності). Цифрові дані результатів експериментів обробляли за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel та Statistica 6.0. (серійний номер AGAR 909 E415822FA). Вірогідність отриманих результатів при міжгруповому порівнянні, враховуючи перевірку на нормальність розподілення отриманих значень (за критеріями Колмогорова-Смірнова), оцінювали за допомогою критерію t-Стюдента. Математична обробка включала розрахунки середніх арифметичних значень ( $M$ ) та стандартних похибок середнього ( $\pm m$ ). При порівнянні показників в межах однієї групи (до та після операції або до та після введення препарату), керуючись тим, що аналізувалася залежна вибірка, використовували парний Т-тест. При порівнянні контрольної та експериментальної груп керувалися тим, що це незалежна вибірка, тому використовували двовибірковий Т-тест. При порівнянні тижневих приростів маси тіла в динаміці в межах групи виконували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). Використовувалося 3 рівня статистичної значимості відмінностей результатів досліджень –  $p<0,05$ ;  $p<0,01$  та  $p<0,001$ .

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Ми провели порівняльний аналіз змін маси тіла тварин обох груп, котрий виявив суттєві та достовірні зміни (рис. 1).

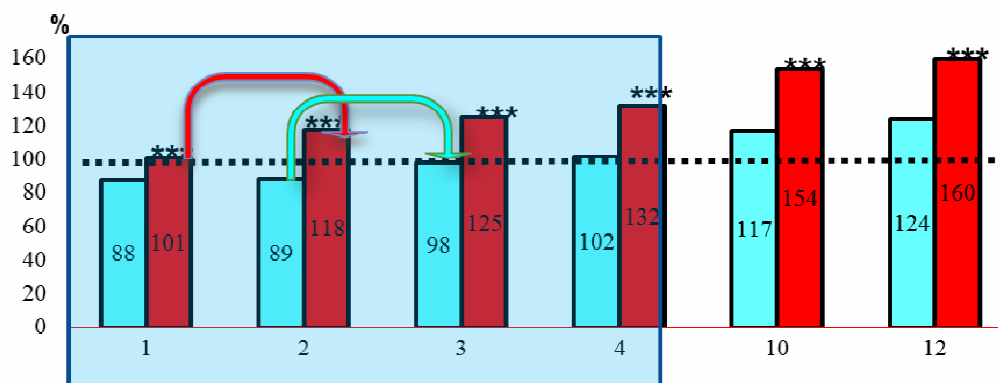


Рис. 1. Динаміка середніх показників маси тіла (%) білих щурів у ранній та пізній періоди після травми сідничного нерва та під впливом хронічного введення (протягом чотирьох тижнів) оксибутирату натрію.

*Примітки:* По вісі абсцис - час після пошкодження нерва, тижні; по вісі ординат – зміни маси тіла (%) тварин контрольної (світлий стовбець) та експериментальної (темний стовбець) груп по відношенню до вихідної середньої маси тіла (212 г) до операції (прийнятої за 100 % та позначеної пунктиром). Стрілочками показані найбільші достовірні ( $p < 0,05$ ) тижневі прирости маси тіла в групах. \*\*\* - різниця між дослідом і відповідним контролем при  $p < 0,001$ .

Так, через тиждень після денервації у тварин контрольної групи маса тіла значно знизилася та становила 88 % від вихідного доопераційного значення, тоді як у щурів експериментальної групи вона не змінилася. Класичне зниження маси тіла (так звана «відповідь» на денервацію) [13], котру ми спостерігали у тварин контрольної групи наприкінці 1-го тижня після операції може бути пов'язана за таких умов не лише зі зниженням маси денервованих м'язів [12], але і з відчуттям посттравматичного болю [14]. Таким чином, відсутність змін маси тіла експериментальних тварин за умов денервації під впливом ГГОБ, може пояснюватися як анаболічними, так і антиноцицептивними його ефектами. Оскільки відомо, що за умов пошкодження сідничного нерва, відбувається зниження активації нисхідних антиноцицептивних шляхів, що може сприяти м'язовій атрофії та моторній дисфункції [15] та лежить в основі виникнення посттравматичного периферичного болю. Це говорить про те, що за умов пошкодження периферичного нерва розвивається больовий синдром, пов'язаний з виникненням генератора патологічно посиленого збудження (ГППЗ) в системі больової чутливості та надходження в спинний мозок ноцицептивної імпульсації, що призводить до деполяризації ноцицептивних нейронів та їх гіперактивності. Недостатність гальмівного контролю в популяції нейронів, що складають ГППЗ, в тому числі - недостатність ГАМК – лежить в основі патогенезу виникнення болю [4, 16]. Ми припускаємо, що хронічне введення ГГОБ могло призводити до зникнення такої гальмівної недостатності, тобто викликати гальмування нейронів, відповідальних за утворення патологічної алгічної системи (ПАС), знижуючи при цьому активність ГППЗ. Відомо, що ГГОБ здатен блокувати збудження на рівні таламуса та пригнічувати проведення збудження волокнами

спиноталамічного тракту [1, 2]. Ми не ставили собі за мету вивчити активність ноцицептивної системи за умов хронічного введення ГГОБ після денервації, однак спостерігали, що при пошкодженні нерва поведінка тварини контрольної групи значно відрізнялася від такої у тварин експериментальної групи. По-перше, тварини без впливу ГГОБ на перших тижнях після операції були більш агресивними та дратівливими, втрачали вагу, не користувалися пошкодженою кінцівкою (тягали її за собою), довго та часто вмивалися, у них виникав тривалий чухальний рефлекс тією лапою, на якій моделювалася операційна травма. Тоді як, тварини експериментальної групи були менш агресивними, вони набирали вагу, у них спостерігалось зменшення тривалості чухального рефлексу та вони вже з 2-го тижня після операції досить активно користувалися пошкодженою кінцівкою. Наші спостереження співпадають з даними інших авторів [17], котрі вважають, що превентивний (введення з 1-го дня після операції) та лікувальний (введення з 12-го дня після операції) ефекти хронічного введення ОБН у вигляді зниження больової чутливості за умов нейропатичного больового синдрому пов'язані з його здатністю до посилення пресинаптичного, реципрокного та низхідного гальмування сегментарного апарату спинного мозку. Крім того, відомо, що ГГОМК попереджає посилений викид норадреналіну в перші години розвитку патологічного процесу, зберігаючи депо цього медіатора, а в подальшому – призводить до виділення норадреналіна та серотоніна, що сприяє посиленню низхідного моноамінергічного гальмування; підвищує рівень динорфіна та β-ендорфіна в різних ділянках головного мозку, прискорює вивільнення опіоїдів [2]. Відомо про використання ГГОБ в реабілітації пацієнтів з травмами периферичної нервової системи для боротьби з посттравматичною депресією (яка виникає через підвищення чутливості пацієнта до болю) з метою формування мотивації до реабілітаційних занять під час відновлювального процесу [4]. Не можна виключити, що тварини експериментальної групи через низьку чутливість до посттравматичного болю під впливом хронічного введення ГГОБ, мають можливість більш раннього настання тренування кінцівки, тобто менш обмежене використання її під час рухової активності порівняно з контрольною групою, що, безумовно, може позитивно позначитися на процесі відновлення скоротливої активності м'язів цієї кінцівки.

Через 2 тижні після операції маса тіла тварин контрольної групи залишалася незмінно зниженою, тоді як маса експериментальних тварин зросла на 18 % порівняно з вихідним доопераційним рівнем. Крім того, двотижневе хронічного введення ГГОБ, у тварин експериментальної групи призвело до найбільшого тижневого приросту маси тіла (в середньому, на 38 г). Аналогічний приріст маси тіла (в середньому, на 20 г). У тварин контрольної групи спостерігався через 3 тижні після операції та сприяв практично повному відновленню маси тварин (98 % вихідного рівня). У тварин експериментальної групи на третьому тижні після операції суттєво збільшилася маса тіла ( $p < 0,001$ ), складаючи 125 % вихідного рівня. Через 4 тижні після хронічного введення ГГОБ маса тіла тварин експериментальної групи була на 30 % більшою, ніж в контролі ( $p < 0,001$ ). Середній приріст маси тіла протягом раннього терміну після денервації у тварин контрольної групи склав 7 г проти 17 г в експериментальній групі. Звертає на себе увагу, що у віддалені терміни після операції (10-й та 12-й тижні), навіть за відсутності впливу ГГОБ, у тварин експериментальної групи виявлено збільшення

маси тіла по відношенню до вихідної доопераційної ваги на 116-127 г проти відповідного збільшення на 37-52 г у тварин контрольної групи (рис.1).

Таким чином, аналізуючи зміни маси тіла експериментальних тварин, ми дійшли висновку, що зростання маси тіла тварин, яке відбувається починаючи з 2-го тижня хронічного введення, узгоджується з отриманими нами раніше результатами досліджень по вивченню змін сили довільних м'язових зусиль під впливом ГГОБ [8]. Раніше ми виявили, що починаючи з 2-го по 4-й тижні хронічного післяопераційного введення, ГГОБ сприяє приросту ( $p < 0,001$ ) сили довільних скорочень м'язів як травмованої («м'язи-розгиначі» - в 2-2,5 рази; «м'язи-згиначі» – 50%), так і контралатеральної (24-41 %) кінцівок порівняно з контролем.

Збільшення маси тіла експериментальних тварин та зростання сили м'язів на обох кінцівках (травмованій та контралатеральній) свідчать про те, що стимулюючий вплив ГГОБ в умовах денервації може бути пов'язаний з ендокринологічним ефектом дії препарату – здатністю значно підвищувати концентрацію гормону росту в крові [1, 2, 11, 18]. Саме з функціями цього гормону пов'язують анаболічний ефект ГГОМК у вигляді посилення м'язового росту, котрий активно використовується бодібілдерами. Відомо, що анаболічні гормони (в тому числі, соматотропний гормон, в більшій мірі впливають на «швидкі» м'язові волокна, прискорюючи синтез «швидкого» міозина в них. Механізм дії соматотропного гормону полягає в тому, він здатен діяти на печінку, викликаючи утворення в ній особливого білка – соматомедина (інсуліноподібного фактора росту), котрий є гормональним посередником між СТГ та білковими молекулами. Утворюючись в печінці, соматомедин діє безпосередньо на генетичний апарат клітини, викликаючи підсилення білкового синтезу. Ми не виключали здатність ГГОМК активувати метаболічний шлях, відомий як «пентозний шунт», котрий відіграє важливу роль в процесах синтезу білків [1], забезпечувати протейнзберігаючий ефект. Ми вважаємо, що саме вищенаведений анаболічний ефект ГГОБ по відношенню до скелетно-м'язової тканини і є причиною збільшення сили довільних м'язових скорочень обох кінцівок та зростання маси тканин.

У віддалений термін після попереднього введення ГГОБ (тобто на 10-му та 12-му тижнях після операції) його анаболічний вплив підтверджується не лише зафіксованим нами підвищенням маси тіла експериментальних тварин (на 30 %), але і співпадає з попередніми результатами, що засвідчили збільшення сили м'язів як попередньо травмованої (відповідно: «м'язи-розгиначі» - 40-30 %; м'язи-згиначі – 5-4 %), так і контралатеральної (відповідно: «м'язи-розгиначі» - 26-20 %, м'язи-згиначі – 48-36 %) кінцівок порівняно з контролем. Таким чином, ми вважаємо, що хронічний стимулюючий вплив ГГОБ на силу довільних м'язових скорочень пов'язаний переважно з його метаболічними ефектами.

### ВИСНОВКИ

1. У щурів, що знаходились під впливом хронічного введення гамма-гідроксибутирату після однобічного передавлювання сідничного нерва, спостерігалась відсутність класичного зниження маси тіла як «відповідь на денервацію».

2. Анаболічний ефект від хронічного введення гамма-гідроксибутирату спостерігається починаючи з 2-го тижня хронічного введення препарату.
3. Попереднє хронічне введення гамма-гідроксибутирату сприяє збільшенню маси тіла експериментальних тварин у віддалені терміни після денервації.

#### Список літератури

1. Waszkielewicz A. Hydroxybutyric acid (GHB) and its chemical modifications: a review of the GHBergic system", / A. Waszkielewicz, J. Bojarski // *Pol. J. Pharmacol.* – 2004. – V. 56, №1. – P. 43–49.
2. Different actions of gamma-hydroxybutyrate: a critical outlook / C. Greiner, J.E. Röhl, H. Wassmann [et al.] // *Neurol. Res.* – 2003. – Vol. 25, №7. – P.759-763.
3. Оковитый С.В. Клиническая фармакология антигипоксантов (часть II) / С.В. Оковитый // *ФАРМиндекс-Практик.* – 2005. – №7. – С. 48-63.
4. Коваленко А.П. Антидепрессанты в реабилитации пациентов с заболеваниями и травмами ПНС / А.П. Коваленко // *Псих. расстройства в общей медицине.* – 2008. – №4. – С.1-6.
5. Крупина Н.А. Моделирование дофаминдефицитзависимого депрессивного состояния на фоне развития болевого синдрома у крыс / Н.А. Крупина // *Боль.* – 2006. – № 4. – С.11-17.
6. Экспериментальное исследование местного применения натрия оксибутирата в лечении болевых синдромов лица / Н.Г. Коротких, В.А. Николаевский, И.Н. Лесникова [и др.] // *Журнал теоретической и практической медицины.* – 2003. – № 1. – С.49-51.
7. Represa A. Trophic actions of GABA on neuronal development / A. Represa, Y. Ben-Ari // *Trends Neurosci.* – 2005. – № 28. – P. 278-283.
8. Родинський О.Г. Вплив системного введення гамма-гідроксибутирату на відновлення функцій дистальних м'язів задньої кінцівки щурів після передавлювання сідничного нерва / О.Г. Родинський, І.Я. Сердюченко, Т.В. Демченко // *Нейрофізіологія.* – 2011. - № 2. – С. 134–145.
9. Crunelli V. Unravelling the brain targets of  $\gamma$ -hydroxybutyric acid / V. Crunelli, Z. Emri, N. Leresche // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2006. - V.6, №1. – P. 44-52.
10. Brattacharya I. GHB carrier-mediated transport across blood-brain barrier / I. Brattacharya, M. K. Boje // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* - 2004. – V. 311, № 1. — P. 92-98.
11. Cauter E. Simultaneous stimulation of slow wave sleep and growth hormone secretion by gamma-hydroxybutyrate in normal young men / E. Cauter, L. Plat, M. Scharf // *J. Clin. Invest.* – 1997. – Vol.100, №3. – P.745-753.
12. Ткаченко В.П. Влияние различных видов денервации на трофику скелетной мышцы / В.П. Ткаченко, В.В. Колдунов // *Карповские чтения : материалы I Всеукраинской научной морфологической конф., 18-21 мая 2004 г.: тезисы докл.* – Днепропетровск, 2004. – С. 56-59.
13. Muller F.L. Denervation – induced skeletal muscle atrophy is associated with increased mitochondrial ROS production / F.L. Muller, W.Song, Y.C. Jang // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2007. - V. 293, № 3. - P. 1159 – 1168.
14. Хоженко Е.В. Комплексная диагностика и терапия неврологических нарушений при посттравматических расстройствах: автореф. дис. ... док. мед. наук: спец. 14.01.11 "Нервные болезни" / Е.В. Хоженко. - Москва, 2011. - 33 с.
15. Kim T.-W. Effects of amygdalin on the functional recovery and c-Fos expression in the ventrolateral periaqueductal gray region after sciatic crushed nerve injury in rats / T.-W. Kim, H.-H. Lim, Y.-K. Song // *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine.* – 2008. – Vol. 7, № 5. – P. 556-563.
16. Кукушкин М.Л. Неврогенная (невропатическая) боль / М.Л. Кукушкин // *Лекарственный вестник.* – 2006. - №6. - С. 61-64.
17. Данилова Е.И. Действие оксибутирата натрия при болевых симптомах / Е.И. Данилова, В.Н. Графова, Р.У. Островская // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* – 1996. - № 4. – С. 395–398.
18. Manore M. A-Z of nutritional supplements: dietary supplements, sports nutrition foods and ergogenic aids for health and performance / M. Manore, R. Meeusen, B. Roelands // *Br. J. Sports Med.* – 2011. - Vol. 45, №1. – P. 73–74.