

## ВПЛИВ ОПІАТОНЕГАТИВНОГО ЗАСОБУ НАЛОКСОНУ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЕРИТРОЦИТІВ

*О.М. Важнича, д.мед.н.<sup>1</sup>, Р.В. Луценко, к.мед.н.<sup>1</sup>, Н.О. Олійник<sup>1</sup>, Н.В. Деміхова<sup>2</sup>*

1. Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава.
2. Сумський державний університет.

Широко відома роль опіаторецепторів у функціонуванні антиноціоцептивної, імунної, серцево-судинної системи, шлунково-кишкового тракту, патогенезі наркоманій та алкоголізму, лімітації стрес-реакції в центральній нервовій системі і периферичних органах [2, 5, 11]. В медицині застосовують як опіатопозитивні засоби (наркотичні анальгетики, протикашльові препарати, неінгаляційний наркозний засіб кетамін), агоністи/антагоністи опіаторецепторів (бупренорфін, буторфанол) так і опіатонегативні речовини (антагоністи наркотичних анальгетиків налоксон, налтрексон) [2, 6, 13]. За цих умов особливої уваги заслуговують антагоністи опіатних рецепторів конкурентного типу, зокрема налоксон, який застосовується при гострих опійних і алкогольних інтоксикаціях, лікуванні хронічного алкоголізму і наркоманій, різних видах шоку для підвищення артеріального тиску [1, 12]. В експериментальній фармакології досить часто налоксон застосовується для блокади опіатних рецепторів з метою з'ясування їх ролі в механізмах дії інших препаратів і моделювання фази морфінової абстиненції [14]. Показана позитивна дія препарату при модельних ушкодженнях спинного мозку, серцево-судинній патології, регіональній ішемії [1, 10]. Однак поглиблене дослідження механізмів дії налоксону зберігає свою актуальність як з точки зору фармакологічного аналізу патологічних процесів, так і з точки зору самої фармакології [7].

**Мета представленої роботи** – вивчити вплив селективного блокатора опіаторецепторів налоксону на стан еритроцитів у нормі та за умов гострого стресу.

**Матеріали і методи дослідження.** В експериментах використано 26 нелінійних білих щурів-самців масою 150-200 г. До експерименту і під час нього тварин утримували в стандартних умовах віварію з 2-разовою годівлею і доступом до питної води за потребою. Тварин було розподілено на 4 групи: 1 – контрольна група (інтактні щури із введенням 0,9% розчину натрію хлориду внутрішньоочеревинно, 6 тварин); 2 – введення налоксону (6 тварин); 3 – гострий стрес із введенням 0,9% розчину натрію хлориду (7 тварин); 4 – гострий стрес із введенням налоксону (7 тварин). Гострий стрес відтворювали шляхом іммобілізації тварин на спині протягом 3-х годин [3]. Налоксон, 0,04% розчин в ампулах по 1 мл ("Здоров'є народу", Харків, Україна), вводили тваринам внутрішньоочеревинно в дозі 0,1 мг/кг маси тіла за 30 хв до початку стресу. Інтактним щурам налоксон вводили аналогічним чином за 5 год до початку дослідження. Через 1,5 год після завершення дії стресорного фактора щурів піддавали етаназії під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг) шляхом забору крові з серця до його зупинки. В зразках крові визначали загальну кількість еритроцитів шляхом підрахунку в камері Горяєва і досліджували кислотну резистентність еритроцитів за методом Терскова-Гітельсона в модифікації Воробйова [8]. Одержані дані статистично обробляли з використанням t критерію Стьюдента для незалежних вибірок [9].

**Результати та їх обговорення.** Експериментальні дослідження показали, що у тварин контрольної групи загальна кількість еритроцитів у крові становить  $7,1 \pm 0,4 \times 10^{12}/л$ , а графік кислотного гемолізу еритроцитів має один максимум, який припадає на 2,5 хв і дорівнює  $22,3 \pm 1,9\%$  (рисунок). Еритрограма закінчується в межах 7 хв дослідження.

Введення блокатора опіатних рецепторів налоксону інтактним тваринам не впливає на загальну кількість еритроцитів, яка становить  $7,6 \pm 0,4 \times 10^{12}/л$ , але змінює

кінетику кислотного гемолізу еритроцитів (див. рисунок). На еритрограмі це виявляється формуванням абсолютного максимуму  $26,6 \pm 1,5\%$  на 4-ій хв ( $p < 0,05$ ) дослідження та двох локальних максимумів гемолізу на початковому і кінцевому відрізках еритрограми: відповідно  $14,2 \pm 2,1\%$  в 1,5 хв та  $9,7 \pm 2,5\%$  на 6-ій хв. Закінчення реакції має місце на 7,5 хв дослідження.

Такий розвиток процесів може пояснюватись усуненням гальмівного впливу ендогенних опіатних пептидів та їх рецепторів на симпатичну іннервацію ефекторних органів, що модифікує вихід еритроцитів із депо, зокрема, з селезінки, і зумовлює збільшення в циркуляції, в основному, середньо стійких форм червонокривців віком 30-90 днів. Ця дія препарату може пояснювати позитивний його вплив при гострофазових реакціях організму, зокрема, шоківих станах різної етіології.

Гострий іммобілізаційний стрес істотно не впливає на загальну кількість еритроцитів у крові порівняно з контролем:  $6,7 \pm 0,5 \times 10^{12}/л$ . Водночас він викликає формування еритрограми з трьома максимумами на 3-ій, 4,5 та 6-ій хв, які відповідно становлять  $7,3 \pm 2,8\%$ ;  $10,4 \pm 2,3\%$  та  $6,5 \pm 2,5\%$  (див. рисунок). Значення головного максимуму вірогідно нижче за показники контрольної групи ( $p < 0,05$ ). Такий характер еритрограми свідчить про зниження стійкості еритроцитів до гемолізу за умов гострого стресу. Вочевидь, ці порушення зумовлені змінами структури і функції мембран еритроцитів. Одним з механізмів ушкодження мембран червонокривців при стресі може бути активація процесів перекисного окиснення ліпідів та пригнічення антиоксидантного захисту в них. На користь цієї думки свідчать доні, щодо змін рівня глутітиону за умов напруження адаптаційних реакцій, який є одним з основних компонентів забезпечення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в еритроцитах [4].

Запобіжне введення конкурентного блокатору опіатних рецепторів налоксону при гострому стресі зменшує загальну кількість еритроцитів у крові на 22% у порівнянні зі стресом, що дорівнює  $5,2 \pm 0,5 \times 10^{12}/л$  ( $p < 0,05$ ). Препарат також істотно змінює характер еритрограми порівняно зі стресом без корекції (див. рисунок). Спостерігається депресія початкової ділянки графіку, його стрімке зростання між 3-4,5-ою хв дослідження до максимуму:  $25,0 \pm 2,7\%$  ( $p < 0,05$ ) і падіння протягом звичайного часу. Це наближує характер еритрограми до норми і на фоні зменшення загальної кількості еритроцитів, вочевидь, свідчить про посилене руйнування та елімінацію з кровотоку нестійких до гемолізу форм еритроцитів, їх своєрідну "селекцію".

Таким чином, блокада опіаторецепторів налоксоном у інтактних та підданих стресу тварин змінює загальну кількість і модифікує морфофункціональні характеристики еритроцитів, що свідчить про участь опіатергічних механізмів у регуляції цих процесів. Отримані результати розширюють уявлення про фармакодинамічні властивості препарату і мають враховуватись при клінічному застосуванні налоксону.

#### **Висновки:**

1. Гострий іммобілізаційний стрес знижує стійкість еритроцитів до гемолізу;
2. Блокатор опіатних рецепторів налоксон у інтактних щурів модулює вихід еритроцитів із депо (селезінки), при стресі препарат наближає еритрограму до норми.

В подальших наших дослідженнях планується вивчити вплив синтетичних антиоксидантів на стан еритроцитів у нормі і в динаміці стадії тривоги розвитку стрессиндрому, а також з'ясувати роль опіатергічних механізмів у регуляції зазначених процесів.

#### **ЛІТЕРАТУРА**

1. Бергман Г. Катцунг. Базисная и клиническая фармакология: в 2-х т. Том 1/ Пер. с англ. – М. – СПб.: Бином – Невский диалект, 1998. – 612 с.
2. Громов Л.О. Філоненко М.А., Овінова Г.В. Пішель В.Я. Експериментальна терапія абстинентного синдрому у морфін залежних шурів // Ліки. – 2000. - №1-2. – С. 6-9.
3. Горизонтов П.Д. Белоусова О.И., Федотова М.И. Стресс и система крови. – М.: Медицина, 1983. – 240 с.
4. Девяткина Т.А. Антиоксидантная система при стрессе и изыскание новых антистрессорных средств: Автореф. дис... д-ра мед. наук. 14.00.25 / Полт. мед. стомат. ин-т. - Киев, 1990. - 34 с.
5. Лишманов Ю. Б., Нарыжная Н.В., Маслов Л.Н. Влияние энкефалинов на биосинтез миокардиальных белков при остром холодовом воздействии // Вопросы мед. химии. – 1999. – Т. 45, вып. 3. – С. 237-241.
6. Масюк Т.В. Енкефаліни як регулятори фізіологічних функцій // Фізіол. Журн. - 1998. - Т.55, № 1-2. - С. 112-122.
7. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В 2-х томах. Т.1. Изд. 13-е, новое. - Харьков: Торсинг, 1998. – 592 с.
8. Руководство к практическим занятиям по клинической лабораторной диагностике / М.А. Базарнова, В.Т. Морозова, И.Н. Зайка и др. / Под ред. М.А. Базановой, В.Т. Морозовой. – К.: Высш. шк., 1988. – 318с.
9. Боровиков В. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. – СПб.: Питер, 2001. – 656 с.
10. Gao N., Wang A.J., Yang Y.Z., Hu M.X., Xie H. Opioid receptor mediated modulation of intrahippocampal enkephalin induced cellular immune function // Sheng Li Xue Bao. - 1999 . – Vol. 51, №1. – P. 106-110.
11. Jaba I.M., Luncanu I., Mungiu O.C. Opioid tolerance and dependence--pharmacological aspects // Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi. – 2001. – Vol. 105, №3. – P. 444-550.
12. Floter T., Brunnmuller U. Tilidine/naloxon retard in long-term administration in chronic pain and multimorbidity. Multicenter study of long-term tolerance and effectiveness in 2 years observation // Fortschr Med Orig. – 2002. – Vol. 120, №1. - P. 29-35.
13. Liu X.H., Xu L., Qiu X.C. et al. The effect of melatonin on enhancing immune function and inhibiting the ability of NO over-release in morphine dependend mice // Yao Xue Xue Bao. – 2000. – Vol. 35, №11. – P. 806-809.
14. Zhou Y.H., Huo Z.Y., Qiu X.C. Inhibitory effect of melatonin on morphine withdrawal syndromes and the content of NO in plasma and brain tissue in morphine dependent mice // Yao Xue Xue Bao. - 2002 . – Vol. 37, №3. – P. 175 - 177.

## **РЕЗЮМЕ**

### **ВПЛИВ ОПІАТОНЕГАТИВНОГО ЗАСОБУ НАЛОКСОНУ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЕРИТРОЦИТІВ**

*О.М. Важнича, Р.В. Луценко, Н.О. Олійник, Н.В. Деміхова*

У досліджах на 26 білих щурах досліджено вплив налоксону (0,1 мг/кг) на загальну кількість еритроцитів та їх кислотний гемолиз у нормі та при гострому стресі. Показано, що блокада опіаторецепторів змінює еритрограму інтактних тварин. При гострому стресі налоксон зменшує загальну кількість еритроцитів у крові і наближує кінетику кислотного гемолізу еритроцитів до такої в контролі.

Ключові слова: налоксон, еритроцити, кислотна резистентність еритроцитів.

## **РЕЗЮМЕ**

### **ВЛИЯНИЕ ОПИАТОНЕГАТИВНОГО СРЕДСТВА НАЛОКСОНА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ**

*Е..М. Важничая, Р.В. Луценко, Н.А. Олейник, Н.В. Демихова*

В опытах на 26 белых крысах исследовано влияние налоксона (0,1 мг/кг) на общее число эритроцитов и их кислотный гемолиз в норме и при остром стрессе. Показано, что блокада опиаторецепторов изменяет эритрограмму интактных животных. При остром стрессе налоксон уменьшает общее число эритроцитов в крови и приближает кинетику кислотного гемолиза эритроцитов к таковой в контроле.

Ключевые слова: налоксон, эритроциты, кислотная резистентность эритроцитов.

## **SUMMARY**

### **THE INFLUENCE OF OPIOID-NEGATIVE REMEDY NALOXONE ON MORPHOFUNCTIONAL STATUS OF ERYTHROCYTES**

*Ye.M. Vazhnichaya, P.V. Lutzenko, N.A. Oleynik, N.V. Demihova*

In experiments on 26 albino rats it was investigated the influence of naloxone (0,1 mg/kg) on erythrocytes number and their acid hemolysis under normal conditions as well as in acute stress. It was shown that the blocking of opiate receptors decrease the number of erythrocytes in blood and make the kinetics of acid hemolysis the same as this parameter in control group.

Key words: naloxone, erythrocytes, acid resistance of erythrocytes.



Рисунок. Вплив налоксону на еритрограми білих щурів у нормі та при гострому стресі.

Умовні позначення:

\* -  $p < 0,05$  у порівнянні з контролем;

\*\* -  $p < 0,05$  у порівнянні зі стресом;

По осі ординат – % гемолізу за 1 хв.

