

Рекомендована д. біол. наук, проф. І. М. Кліщем

УДК 616-005.1 : 615

## ВПЛИВ 2-ЕТИЛ-6-МЕТИЛ-3-ОКСИПІРИДИНУ СУКЦИНАТУ НА РЕГЕНЕРАТОРНУ РЕАКЦІЮ ЕРИТРОНУ ПРИ ГОСТРІЙ КРОВОВТРАТІ

© Н. О. Власенко, О. М. Важнича

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», Полтава

**Резюме:** у досліджах на білих щурах-самцях моделювали гостру втрату 25 % циркулюючої крові. З метою профілактики порушень у системі еритронон тваринам вводили 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинат (мексидол) у дозі 100 мг/кг внутрішньоочеревинно за 30 хв до втрати крові. У динаміці відновного періоду визначали клітинні показники кісткового мозку та вміст ретикулоцитів у крові. Показано, що вплив мексидолу характеризується вищими значеннями загальної кількості каріоцитів та представництва еритроїдних клітин різного ступеня зрілості через 24 та 72 год після вилучення крові порівняно з контрольною патологією. Під дією препарату відбувається збільшення вмісту ретикулоцитів у циркуляції через 24 год та 5 дб після крововтрати. Результати свідчать, що 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинат посилює регенераторну активність кісткового мозку при гострій крововтраті.

**Ключові слова:** 3-оксипіридин, мексидол, крововтрата, кістковий мозок, ретикулоцити.

**Вступ.** Одним із значних досягнень фармакології країн пострадянського простору стало вивчення й впровадження в клінічну практику антиоксидантів із числа похідних 3-оксипіридину. Найвдалішим препаратом цього ряду вважають 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинат, або мексидол [1]. Він має широкий спектр фармакологічних ефектів (анксиолітичний, ноотропний, церебропротективний, антигіпоксичний та ін.), причому антиоксидантна та антигіпоксична дія проявляються не тільки в центральній нервовій системі, а й в периферичних органах [1]. Це зумовило впровадження мексидолу в клініку у вигляді різних медичних форм для загального й місцевого застосування – від ампульованого розчину до перев'язувального матеріалу з іммобілізованим на ньому препаратом [1, 2]. Водночас вплив мексидолу на систему крові досліджено недостатньо. Відомі лише окремі факти, що свідчать про можливість його застосування при ушкодженні кісткового мозку радіаційного та токсичного генезу [3]. Системне вивчення дії мексидолу на еритрон та його регенераторну активність при дії на організм надзвичайних подразників, зокрема втрати крові, раніше не проводили.

Мета роботи – вивчити вплив мексидолу (2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинату) на клітинний склад кісткового мозку та вміст ретикулоцитів у крові експериментальних тварин при гострій крововтраті.

Відповідно до мети визначено завдання дослідження:

1. Вивчити в динаміці клітинний склад кісткового мозку білих щурів після гострої крововтрати та її корекції мексидолом.

2. Порівняти вміст ретикулоцитів у крові білих щурів після гострої крововтрати на фоні введення препарату та без нього.

**Методи дослідження.** Експерименти виконано на 47 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180–200 г, що відповідали біоетичним вимогам і були дозволені комісією з питань біоетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Гостру крововтрату моделювали шляхом пункції серця й вилучення 25 % об'єму циркулюючої крові під неінгаляційним наркозом [4]. З метою профілактики тваринам вводили мексидол (2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинат) у вигляді комерційного препарату, який являє собою 5 % розчин в ампулах по 2 або 5 мл (ООО Медицинский центр «Эллара», РФ). Мексидол застосовували в ефективній дозі 100 мг/кг, яка узгоджується з його терапевтичною дозою (10–300 мг/кг) і значно нижча від  $LD_{50}$  (625–1025 мг/кг) [5]. Препарат вводили інтраперитонеально в профілактичному режимі (за 30 хв перед вилученням крові).

Через 3, 24, 72 год та 5 дб після крововтрати тварин піддавали евтаназії під неінгаляційним наркозом, забираючи кров із серця до його зупинки. Контролем слугували інтактні щури на початку експерименту. Крововтрату без фармакологічної корекції використовували як контрольну патологію.

Загальну кількість каріоцитів (цитоз) у кістковому мозку стегнової кістки щурів досліджували за методом П. Д. Горизонтова и соавт. (1983), використовуючи весь орган, гомогенізований в 5 % розчині оцтової кислоти, і підраховуючи каріоцити в камері Горяева [6]. Мазки кісткового

мозку фіксували і фарбували за Паппенгеймом [7], після чого вивчали мієлограму, звертаючи основну увагу на вміст клітин еритроїдного ряду, які ідентифікували за їх морфологічними ознаками [8]. Проводили визначення кількості ретикулоцитів у крові, використовуючи суправітальне фарбування метиленовим синім [7]. Одержаний цифровий матеріал статистично обробляли за допомогою стандартних комп'ютерних програм Microsoft Excel.

**Результати й обговорення.** У ході відтворення контрольної патології було встановлено, що через 3 год від втрати крові загальна кількість каріоцитів у кістковому мозку стегнової кістки білих щурів не відрізняється від контролю (табл. 1). На рівні показників інтактних тва-

рин знаходиться кількість еритробластів, пронормобластів та нормобластів. Пул всіх еритроїдних клітин разом істотно не змінюється. Через 24 год від вилучення крові загальна кількість мієлокаріоцитів зменшується в 1,2 раза ( $p < 0,001$ ) порівняно з вихідними показниками. Це відбувається в основному за рахунок нееритроїдних клітинних елементів, сумарна кількість яких падає в 1,4 раза ( $p < 0,001$ ) порівняно з такою в інтактних щурів на початку спостережень, хоча водночас у мієлограмах реєструється й збільшення кількості пронормобластів ( $p < 0,001$ ). Через 72 год після крововтрати загальна кількість мієлокаріоцитів підвищена в 1,2 раза ( $p < 0,001$ ) порівняно з початковими показниками. Як і в попередньому терміні експерименту, у

**Таблиця 1.** Дія мексидолу на клітинний склад кісткового мозку стегнової кістки щурів при гострій крововтраті ( $M \pm m$ )

Термін спостережень	Характер впливу	Кількість каріоцитів, $10^6$ клітин					
		мієлокаріоцити (всього)	еритробласти	пронормобласти	нормобласти	еритроїдні клітини	інші клітини
Початок	Інтактні (7)	132,9±2,9	0,4±0,04	1,6±0,2	25,9±1,1	27,8±1,1	105,1±2,7
3 год	Крововтрата (5)	131,8±2,7	0,5±0,05	1,9±0,1	23,4±1,2	25,9±1,4	105,9±8,5
	Крововтрата + мексидол (5)	137,8±2,0	0,5±0,04	1,9±0,1	20,8±1,6*	23,2±1,7	114,6±2,9*
24 год	Крововтрата (5)	106,4±2,1*	0,3±0,03	3,1±0,2*	27,6±1,8	31,0±1,9	75,4±1,8*
	Крововтрата + мексидол (5)	154,0,6±3,0***	0,5±0,05**	4,4±0,3***	35,2±2,4***	40,2±2,7**	114,4±4,3***
72 год	Крововтрата (5)	153±3,6*	0,5±0,04	3,3±0,2*	40,4±2,3*	44,2±2,3*	108,8±3,8
	Крововтрата + мексидол (5)	162,8±2,5***	0,7±0,05***	4,0±0,2***	50,4±2,3***	55,1±2,5**	107,7±1,4
5 діб	Крововтрата (5)	154,0±2,3*	0,5±0,04	3,0±0,2*	43,6±1,7*	47,1±1,8*	106,9±1,5
	Крововтрата + мексидол (5)	152,4±2,1*	0,6±0,03*	3,1±0,1*	42±2,1*	45,7±2,0*	106,7±2,6

**Примітки:** 1) \*— $p < 0,05$  порівняно з контролем (інтактні тварини); 2) \*\*— $p < 0,05$  порівняно з контрольною патологією.

кістковому мозку спостерігається високий рівень пронормобластів і нормобластів ( $p < 0,001$ ), а також усіх еритроїдних елементів разом ( $p < 0,001$ ). Через 5 діб цитоз кісткового мозку щурів не відрізняється від такого в попередньому терміні спостережень і перевищує початковий рівень у 1,2 раза ( $p < 0,001$ ). Має місце істотне зростання як сукупної кількості еритроїдних клітин у 1,7 раза ( $p < 0,001$ ), так і окремих їх видів. Кількість пронормобластів збільшується в 1,9 раза ( $p < 0,001$ ), нормобластів – у 1,7 раза ( $p < 0,001$ ) порівняно з контролем. Чисельність клітин інших ростків перебуває на рівні вихідних показників.

На тлі введення мексидолу через 3 год від моменту крововтрати цитоз кісткового мозку, кількість еритробластів, пронормобластів, нормобластів та загальна кількість еритроїдних елементів не змінюються порівняно з крововтратою без введення препарату (див. табл. 1). Через 24 год мексидол викликає зростання цитозу кісткового мозку в 1,5 раза ( $p < 0,001$ ) порівняно з контрольною патологією, що супроводжується збільшенням кількості еритробластів ( $p < 0,01$ ), пронормобластів ( $p < 0,05$ ), нормобластів ( $p < 0,05$ ) та їх сукупної кількості ( $p < 0,05$ ). Ці зрушення супроводжуються також

збільшенням числа каріоцитів інших ростків кровотворення. Під впливом препарату в терміни 72 год від крововтрати зміни цитозу й клітинного складу еритроїдного ростка кісткового мозку аналогічні таким у попередньому терміні спостережень, але набувають ще більшої виразності. Зокрема кількість еритробластів зростає в 1,4 раза ( $p < 0,02$ ), кількість пронормобластів – у 1,2 раза ( $p < 0,05$ ), нормобластів – у 1,2 раза ( $p < 0,02$ ), що викликає відповідне збільшення сумарної кількості еритроїдних клітин різного ступеня зрілості. Через

5 дів після введення мексидолу і крововтрати стан кісткового мозку тварин істотно не відрізняється від такого при контрольній патології (див. табл. 1). При цьому цитоз, загальна кількість еритроїдних елементів та їх окремих видів лишаються вищими за показники інтактних щурів на початку експерименту.

Наведені вище зміни клітинного складу кісткового мозку узгоджуються зі змінами вмісту ретикулоцитів у крові тварин експериментальних і контрольних груп. Динаміку зазначених змін наведено на рисунку 1.

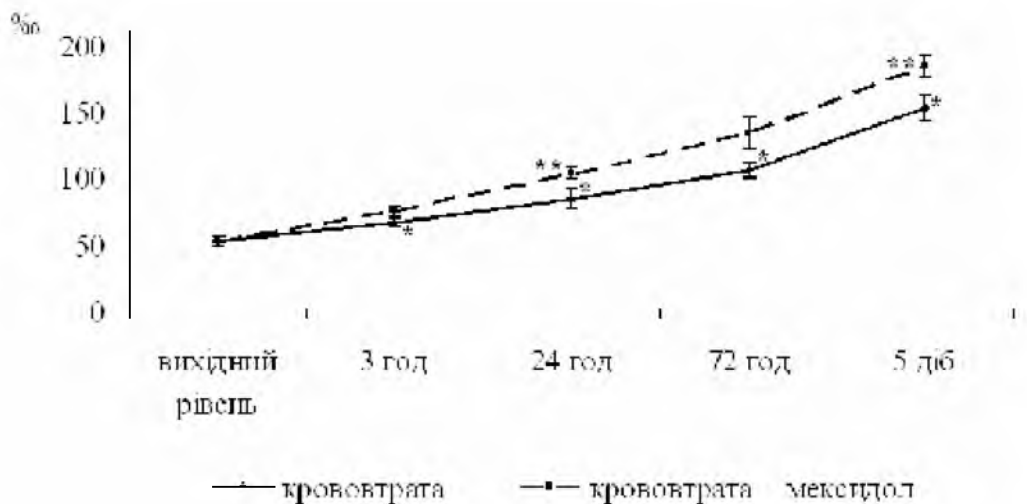


Рис. 1. Вплив мексидолу на вміст ретикулоцитів у крові тварин при гострій крововтраті.

Примітки: \* –  $p < 0,05$  порівняно з контролем (вихідний рівень); \*\* –  $p < 0,05$  порівняно з контрольною патологією.

Якщо цей показник в інтактних білих щурів становить  $(51,2 \pm 3,9)\%$ , то через 3 год після вилучення крові він дорівнює  $(65,4 \pm 3,1)\%$ , що вірогідно вище за вихідний рівень ( $p < 0,05$ ). У наступні терміни після крововтрати без фармакокорекції спостерігається прогресивне зростання кількості ретикулоцитів у крові від  $(82,8 \pm 7,2)\%$  через 24 год ( $p < 0,005$ ) до  $(105,0 \pm 6,2)\%$  ( $p < 0,001$ ) через 72 год та до  $(151,4 \pm 9,7)\%$  через 5 дів ( $p < 0,001$ ).

На тлі застосування мексидолу через 3 год після крововтрати вміст ретикулоцитів дорівнює  $(73,4 \pm 3,9)\%$ , але не має вірогідної різниці від контрольної патології. Через 24 год під впливом мексидолу вміст ретикулоцитів збільшується в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ) порівняно з крововтратою без фармакокорекції й становить  $(102,0 \pm 4,5)\%$ . Ця спрямованість процесів також простежується через 72 год, коли під дією препарату кількість ретикулоцитів зростає в 1,3 раза ( $p < 0,1$ ) і складає  $(133,0 \pm 11,8)\%$ . При уведенні мексидолу через 5 дів в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ) зростає кількість ретикулоцитів у крові порівняно з крововтратою без фармакологічної корекції, що становить  $(182,2 \pm 7,4)\%$ .

Як бачимо, мексидол активує регенерацію еритроїдного ростка кісткового мозку, про що свідчить збільшення цитозу та кількості еритроїдних клітин у кістковому мозку тварин, а також зростання числа ретикулоцитів у крові. Особливо виражений ефект спостерігався через 72 год після вилучення крові, що припадає на кінець стадії гідремічної компенсації та її перехід у стадію кістково-мозкової компенсації [9]. Це пояснює раніше описані нами дані, що профілактичне введення мексидолу сприяє підтриманню нормальної кількості еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту після вилучення крові [10]. Збільшення цитозу й кількості еритроїдних клітин у кістковому мозку тварин, а також зростання числа ретикулоцитів у крові вказують на те, що мексидол здійснює свій протективний вплив на еритроцити при гострій крововтраті, активуючи регенерацію еритроїдного ростка кісткового мозку порівняно з патологічним тлом. З огляду на сучасні уявлення про регуляцію стрес-еритропоєзу [11], можна припустити, що досліджений препарат посилює продукцію еритропоєтину, що може бути наслідком його дії на рівень фактора, що індукується гіпоксією (HIF-1 $\alpha$ ). Адже відомо, що

цей шлях трансдукції еритропоетину пов'язаний з генерацією вільних радикалів кисню та пероксиду водню в еритропоетин-синтезуючих клітинах нирок [12], рівнем гіпоксії в організмі та хелатуванням заліза [13], тобто тими процесами, в які здатний втручатися мексидол [14, 15].

**Висновки.** Профілактично введення 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинату (мексидолу) (100 мг/кг) при гострій крововтраті сприяє по-

силенні медулярного еритропоезу, що підтверджується вищими значеннями загальної кількості каріоцитів та пулу еритроїдних клітин різного ступеня зрілості через 24 та 72 год після вилучення крові порівняно з контрольною патологією. Препарат посилює вихід у кров ретикулоцитів, про що свідчить збільшення вмісту цих форм у циркуляції через 24 год та 5 діб після крововтрати на тлі застосування препарату.

### Література

1. Воронина Т. А. Мексидол. Основные эффекты, механизм действия, применение / Т. А. Воронина. – М., 2005. – 20 с.
2. Клебанов Г. И. Антиоксидантная активность ингибиторов свободно-радикальных реакций, используемых в перевязочном материале для лечения ран / Г. И. Клебанов, О. Б. Любицкий, С. Е. Ильина // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, № 1. – С. 69–82.
3. Влияние мексидола на пострадиационное восстановление кроветворной системы / Б. Б. Мороз, Ю. Б. Дешевой, Г. В. Сукоян [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2009. – Т. 49, № 1. – С. 90–96.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / [наук. ред. О. В. Стефанов]. – К.: Авіцена, 2001. – 527 с.
5. Воронина Т. А. Антиоксидант мексидол. Основные нейрорепродуктивные эффекты и механизм действия / Т. А. Воронина // Психофармакология и биологическая наркология. – 2001. – № 1. – С. 2–12.
6. Горизонтов П. Д. Стресс и система крови / П. Д. Горизонтов, О. И. Белоусова, М. И. Федотова. – М.: Медицина, 1983. – 240 с.
7. Руководство к практическим занятиям по клинической лабораторной диагностике / [М. А. Базарнова, В. Т. Морозова, И. Н. Заика и др.]; под ред. М. А. Базарновой, В. Т. Морозовой. – К.: Выш. шк., 1988. – 318 с.
8. Гаврилов О. К. Клетки костного мозга и периферической крови / О. К. Гаврилов, Г. И. Козинец, Н. Б. Чер-

няк. – М.: Медицина, 1985. – 286 с.

9. Патологическая физиология: учебник: в 2 т. / под ред. В. В. Новицкого, Е. Д. Гольдберга, О. И. Уразовой. – 4-е изд., перераб. и доп. – ГЭОТАР-Медиа, 2009. – Т. 2. – 640 с.
10. Профілактична дія мексидолу при гострій крововтраті / Є. В. Мокляк, Н. О. Олійник, О. М. Важничка [та ін.] // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2008. – № 1–2. – С. 18–21.
11. Paulson R. F. Stress erythropoiesis: new signals and new stress progenitor cells / R. F. Paulson, L. Shi, D. C. Wu // Curr. Opin. Hematol. – 2011. – Vol. 18, № 3. – P. 139–145.
12. Franklin Bunn H. New agents that stimulate erythropoiesis / H. Franklin Bunn // Blood. – 2007. – Vol. 109, № 3. – P. 868–873.
13. Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs) / C. Peyssonnaud, A. S. Zinkernagel, R. A. Schuepbach [et al.] // J. Clin. Invest. – 2007. – Vol. 117, № 7. – P. 1926–1932.
14. Антиоксидантные свойства производных 3-оксипиридина: мексидола, эмоксипина и проксипина / Г. И. Клебанов, О. Б. Любицкий, О. В. Васильева [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 2001. – Т. 47, № 3. – С. 288–300.
15. Яснецов В. В. Исследование противогипоксических и антиамнестических свойств мексидола и семакса / В. В. Яснецов, Т. А. Воронина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т. 73, № 4. – С. 2–7.

## ВЛИЯНИЕ 2-ЭТИЛ-6-МЕТИЛ-3-ОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА НА РЕГЕНЕРАТОРНУЮ РЕАКЦИЮ ЭРИТРОНА ПРИ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕ

Н. А. Власенко, Е. М. Важничая

ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», Полтава

**Резюме:** в экспериментах на белых крысах-самцах моделировали острую потерю 25 % циркулирующей крови. С целью профилактики нарушений в системе эритрона животным вводили 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат (мексидол) в дозе 100 мг/кг, внутривенно за 30 мин до потери крови. В динамике восстановительного периода определяли клеточные показатели костного мозга и содержание ретикулоцитов в крови. Показано, что влияние мексидола характеризуется более высокими значениями общего числа каріоцитів и количества эритроидных клеток различной степени зрелости через 24 и 72 часа после забора крови по сравнению с контрольной патологией. Под действием препарата происходит увеличение содержания ретикулоцитов в циркуляции через 24 часа и 5 суток после кровопотери. Полученные результаты свидетельствуют,

что 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат усиливает регенераторную активность костного мозга при острой кровопотере.

**Ключевые слова:** 3-оксипиридин, мексидол, кровопотеря, костный мозг, ретикулоциты.

## THE INFLUENCE OF 2-ETHYL-6-METHYL-3-OXYPYRIDINE SUCCINATE ON REGENERATIVE REACTION OF ERYTHRON AT AN ACUTE BLOOD LOSS

**N. O. Vlasenko, O. M. Vazhnycha**

*HSEIU "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava*

**Summary:** acute loss of 25 % of circulated blood was designed in experiments in albino male rats. 2-ethyl-6-methyl-3-oxypyridine succinate (mexidol) was administered to animals in a dose of 100 mg/kg intraperitoneally 30 min before the blood loss for prevention of disorders in erythron system. During the restoration period cell parameters of bone marrow and reticulocytes count in blood were studied. It was shown that mexidol's influence is characterized by higher means of common caryocytes count as well as amount of erythroid cells of different maturity in 24 and 72 hours after the blood extraction as compared with control pathology. Under the influence of preparation reticulocytes count in blood circulation increases in 24 hours and 5 days after blood loss. The obtained data testify that 2-ethyl-6-methyl-3-oxypyridine succinate stimulates regenerative activity of bone marrow at an acute blood loss.

**Key words:** 3-oxypyridine, mexidol, blood loss, bone marrow, reticulocytes.