

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

ВЛАСЕНКО НАТАЛІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 615.356 + [613.86 + 616-005]

ВПЛИВ 2-ЕТИЛ-6-МЕТИЛ-3-ГІДРОКСИПРИДИНУ СУКЦИНАТУ
(МЕКСИДОЛУ) НА СТАН ЕРИТРОНУ ПРИ КРОВОВТРАТІ ТА
ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ
(експериментальне дослідження)

14.03.05 – фармакологія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків–2014

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вищому державному навчальному закладі України «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України, м. Полтава

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Важнича Олена Митрофанівна,
Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія»
МОЗ України (м. Полтава),
професор кафедри експериментальної та клінічної
фармакології

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, професор
Загайко Андрій Леонідович,
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків),
завідувач кафедри біологічної хімії

доктор медичних наук, професор
Киричок Людмила Трохимівна,
Харківський національний медичний університет
МОЗ України (м. Харків),
професор кафедри фармакології та медичної рецептури.

Захист відбудеться «___» _____ 2014 р. о ___ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4).

Автореферат розісланий «___» _____ 2014 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
д. фарм. н., професор

Т.С. Сахарова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Інтерес до природних та синтетичних антиоксидантів залишається на високому рівні протягом останніх десятиліть (В. Akbulut, 2010; М.Е. Vozik et al., 2011; V.L. Kumar, В.М. Padhy, 2011; Р.О. Osadebe et al., 2012). Одним із значних досягнень фармакології країн пострадянського простору стало вивчення і впровадження в клінічну практику похідних 3-гідроксипіридину (3-ГП) (Т.А. Воронина, 2005). Найбільш вдалим препаратом цього ряду вважається 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат, або мексидол (Т.А. Воронина, 2005; К.М. Дюмаев и соавт., 1995). Він має широкий спектр фармакологічних ефектів: анксиолітичний, ноотропний, церебропротекторний, антигіпоксичний та інші (Т.А. Воронина, 2005; К.М. Дюмаев и соавт., 1995; Т.А. Воронина, 2007). Метаболічна дія препарату виявляється не тільки в центральній нервовій системі, а й в периферичних органах (Т.А. Девяткина и соавт., 1999; В.О. Костенко, 2002). Це зумовило впровадження мексидолу як у клініку нервових хвороб, так і в кардіологію, акушерство, хірургію, фтизіатрію, стоматологію (Т.А. Воронина, 2005; О.М. Важнича, Т.О. Дев'яткіна, 2009) у вигляді різних лікарських форм для загального й місцевого застосування (від ампульованого розчину до перев'язувального матеріалу з іммобілізованим на ньому препаратом) (Л.Н. Казарина и соавт., 2007; Г.И. Клебанов и соавт., 2006; В.Б. Симоненко и соавт., 2011). Водночас вплив мексидолу на систему крові досліджений недостатньо. Відомі лише окремі факти, що свідчать про можливість його застосування при ушкодженнях кісткового мозку радіаційного та токсичного генезу (В.В. Мороз и соавт., 2009). Також описано здатність цього засобу протидіяти зрушенням морфофункціональних показників кровотворних органів та поліморфноядерних лейкоцитів при гострому і хронічному стресі (Е.М. Важничая, Т.А. Девяткина, 2002). Експериментальні роботи поглиблюють уявлення про механізми дії препарату на еритроцити та еритропоез і ставлять питання про роль у цих процесах взаємодії мексидолу з іонами Феруму, його впливу на асиметрію мембран та цитоскелет еритроцитів (Г.И. Клебанов и соавт., 2001; Є.В. Мокляк та співавт., 2011). Однак системне вивчення дії мексидолу на еритрон як сукупність еритроцитів від їх утворення до загибелі за умов експериментальної патології раніше не проводилось. Особливий інтерес викликає дослідження ефектів цього препарату стосовно еритроцитів та еритропоезу при дії на організм стресорів із різним ступенем впливу на еритрон, що може мати практичне значення у зв'язку із широкими перспективами застосування 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату для подолання негативних наслідків стресу в осіб, які зазнали впливу надзвичайних факторів (Т.А. Воронина, 2005; Т.А. Воронина и соавт., 2007).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом планової НДР ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» «Вивчення зв'язку ушкоджень органів системи травлення і кровопостачання за умов емоційного стресу та корекції», номер держреєстрації 0107U001557. Авторка була співвиконавцем зазначеної НДР.

Мета і задачі дослідження. *Мета роботи* – експериментальне обґрунтування доцільності використання 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату

(мексидолу) в профілактиці стресових станів, викликаних крововтратою та іммобілізацією, з урахуванням його ефектів в системі еритронону.

Відповідно до мети сформульовані *задачі* дослідження:

1. Дослідити вплив мексидолу на морфофункціональні показники та стан перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного захисту в еритроцитах тварин у різні терміни після гострої крововтрати.

2. Визначити вплив мексидолу на стан медулярного еритропоезу та рівень ПОЛ / антиоксидантного захисту в кістковому мозку білих щурів у динаміці відновного періоду після гострої крововтрати.

3. Визначити вплив мексидолу на морфофункціональні показники еритроцитів та стан ПОЛ / антиоксидантного захисту цих клітин у різні терміни стрес-синдрому, зумовленого іммобілізацією.

4. Оцінити вплив мексидолу на стан медулярного еритропоезу й зміни ПОЛ / антиоксидантного захисту в кістковому мозку тварин при гострому іммобілізаційному стресі.

5. Порівняти ефекти мексидолу при гострій крововтраті та іммобілізаційному стресі з ефектами натрію оксибутирату (ГОМК-Na) та визначити особливості фармакодинаміки мексидолу в системі еритронону при крововтраті в порівнянні з препаратом Феррум Лек.

6. Вивчити ефекти мексидолу в системі еритронону при введенні препарату інтактним тваринам.

7. Встановити закономірності дії препарату на систему еритронону залежно від її реакції на вплив подразнюючого фактору.

Об'єкт дослідження – фармакокорекція порушень еритронону.

Предмет дослідження – фармакологічні ефекти 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату (мексидолу) в кістковому мозку та еритроцитах на фоні стрес-синдрому, викликаного гострою крововтратою та іммобілізацією.

Методи дослідження: фармакологічні (фармакокорекція експериментальної патології, порівняння досліджуваного засобу з референс-препаратом), гематологічні (визначення загальної кількості еритроцитів, гемоглобіну, гематокриту, еритроцитарних індексів, регенераторної реакції кісткового мозку), морфологічні (визначення загальної кількості каріоцитів та клітинного складу кісткового мозку, дослідження показників «тріади Сельє»), біохімічні (визначення вмісту заліза, рівня продуктів ПОЛ, активності антиоксидантних ферментів, концентрації низькомолекулярних антиоксидантів), статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Поглиблено уявлення про фармакодинаміку 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату (мексидолу), що стосуються його ефектів у системі еритронону при стресі, зумовленому гострою крововтратою та іммобілізацією.

Вперше показано, що профілактичне введення мексидолу сприяє підтриманню нормальної кількості еритроцитів (RBC), загального гемоглобіну (Hb) та гематокриту (Hct) у фазу гідремічної компенсації крововтрати (стадія тривоги стрес-синдрому), а також посилює насичення еритроцитів гемоглобіном через 5 діб після крововтрати, тобто у фазу кістково-мозкової компенсації (стадія резистентності стрес-синдрому).

Вперше встановлено, що при гострій крововтраті мексидол регулює викид молодих форм еритроцитів у кровообіг і модифікує резистентність цих клітин, а також запобігає активації ПОЛ в еритроцитах і сприяє нормалізації їх антиоксидантного захисту.

Вперше з'ясовано, що за цих умов 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат (мексидол) активує регенерацію еритроїдного ростка кісткового мозку, що супроводжуються гальмуванням ПОЛ та відповідним відгуком антиоксидантного захисту в кістковому мозку.

Вперше продемонстровано, що профілактичне введення мексидолу універсально запобігає змінам еритрону в стадію тривоги загального адаптаційного синдрому (ЗАС), зумовленого іммобілізацією, і попереджує активацію медулярного еритропоезу в стадію резистентності; а також підтримує підвищеним рівень сироваткового Феруму та запобігає розвитку надлишкової ліпопероксидації, індукованої стресом у кістковому мозку та еритроцитах крові.

Вперше встановлено, що ефект від профілактичного введення мексидолу при гострій крововтраті подібний до ефекту антианемічного засобу Феррум Лек стосовно основних показників «червоної» крові, а в порівнянні з ГОМК-На мексидол інтенсивніше відновлює гематологічні показники, активніше стимулює регенераторну реакцію кісткового мозку, справляє сильніший вплив на вміст продуктів ПОЛ та антиоксидантні ферменти в еритроцитах і мієлоїдній тканині, але зумовлює нижчий вміст сироваткового Феруму в стадію кістково-мозкової компенсації крововтрати.

Вперше показано, що існують відмінності в спрямуванні та виразності ефектів мексидолу і препарату порівняння ГОМК-На при гострому іммобілізаційному стресі, які полягають у тому, що вплив мексидолу характеризується нижчими значеннями загальної кількості еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту, зниженням вмісту ретикулоцитів, зростанням вмісту сироваткового Феруму, нижчим цитозом кісткового мозку та більшою виразністю дії на вміст продуктів ПОЛ та активність антиоксидантних ферментів в еритроцитах і мієлоїдній тканині.

На основі порівняння ефектів мексидолу стосовно центральної та периферичної ланок еритрону при крововтраті та іммобілізаційному стресі вперше обґрунтовано, що призначення цього препарату за умов впливу на організм надзвичайних подразників має враховувати його регуляторний вплив на еритропоез, який може бути стимулюючим або гальмівним залежно від характеру ініціації ЗАС.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дисертаційної роботи виступають основою для подальших клінічних досліджень з метою розширення показань до застосування мексидолу, зокрема в профілактиці невідкладних станів та в галузі гематології.

Запропоновано новий спосіб фармакокорекції постгеморагічної анемії, який полягає в тому, що ефективність відновлення гематологічних показників при гострій крововтраті підвищується шляхом профілактичного введення експериментальним тваринам мексидолу в дозі 100 мг/кг (Патент на корисну модель №32193, Україна, заявл. 13.12.2007, опубл. 12.05.08, бюл. №9, 2008), і видано інформаційний лист «Застосування похідного 3-оксипіридину для профілактики гематологічних порушень, індукованих гострою крововтратою» № 178-2012 (2012).

Результати роботи впроваджені в науково-педагогічний процес на кафедрі експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією та на кафедрі патофізіології ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», на кафедрі фармакології ВДНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» та на кафедрі фармакології Національного фармацевтичного університету.

Особистий внесок здобувача. Робота виконана на базі наукової лабораторії кафедри експериментальної та клінічної фармакології ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Здобувачем спільно з науковим керівником розроблено план і програму досліджень, особисто здійснено інформаційно-патентний пошук, виконано експериментальну частину роботи та статистичну обробку одержаних результатів, написано текст дисертації.

Апробація результатів дисертації. Основні результати роботи доповідались на X Міжнародному медичному конгресі студентів і молодих учених (м. Тернопіль, 2006), III Національному з'їзді фармакологів України. «Фармакологія 2006 – крок у майбутнє» (м. Одеса, 2006), III з'їзді фармакологів Росії «Фармакологія – практическому здравоохранению» (м. Санкт-Петербург, РФ, 2007), II симпозиумі «Рослинні поліфеноли та неспецифічна резистентність» (м. Одеса, 2008), II (63) Міжнародному конгресі студентів і молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної медицини» (м. Київ, 2009), XVI та XVII Російському національному конгресі «Человек и лекарство» (м. Москва, РФ, 2009, 2010).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 18 робіт, із них 5 – статті у фахових виданнях, рекомендованих Міністерством освіти та науки України, у тому числі 1 стаття – за кордоном (РФ). Одержано також 1 патент на корисну модель, опубліковано 7 тез у матеріалах конференцій, видано 1 інформаційний лист.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 201 сторінці принтерного тексту, складається із переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали і методи дослідження», трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, практичних рекомендацій і списку літератури, що включає 207 джерел, з яких 154 – кирилицею та 53 – латиницею. Робота ілюстрована 39 таблицями та 24 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Експерименти виконано на 248 білих статевозрілих щурах-самцях. Комісією з біоетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» було підтверджено дотримання норм гуманного поводження з лабораторними тваринами під час експериментів (протокол №86 від 21.09.2010 року). Евтаназію щурів здійснювали під тіопенталовим (50 мг/кг) або кетаміновим (2 мг/кг) наркозом.

Гостру крововтрату моделювали шляхом пункції серця і вилучення 25% об'єму циркулюючої крові під неінгаляційним наркозом (О.В. Стефанов, 2001). Гострий іммобілізаційний стрес за класичною моделлю нервово-м'язового напруження за Н. Selye (1936) відтворювали шляхом іммобілізації щурів на спині протягом 3 год (П.Д. Горизонтов и соавт., 1983). За контроль слугували інтактні

тварини на початку експерименту.

З метою профілактики порушень у стані еритроноу, зумовлених крововтратою або нервово-м'язовим напруженням, тваринам вводили 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат (мексидол) у дозі 100 мг/кг у вигляді 5% розчину в ампулах (ООО Медицинский центр «Эллара», РФ). При дослідженні ефектів мексидолу на фоні крововтрати препаратом порівняння слугував ін'єкційний засіб Феррум Лек у дозі 0,075 мл/кг (Lek, Словенія). Як препарат порівняння також використовували натрію оксибутират (ПАТ «Фармак», Україна) у дозі 100 мг/кг, котрий має (крім інших) анксиолітичний, седативний, ноотропний та антигіпоксичний ефекти, виявляє захисну дію при стресі (Л.Т. Киричек, 2008) і стимулює еритропоез при гіпоксії (Е.Д. Гольдберг и соавт., 2006). Усі засоби вводили інтраперитонеально за 30 хв до іммобілізації або крововтрати.

Визначали вагові індекси надниркових залоз, тимусу й селезінки та утворення виразок у шлунку тварин як критерій розвитку стрес-синдрому (О.В. Стефанов, 2001). У крові вивчали загальну кількість еритроцитів (RBC) у камері Горяєва, гематокрит (Hct) за допомогою гематокритної насадки до центрифуги та вміст загального гемоглобіну (Hb) гемоглобінціанідним методом за допомогою наборів реактивів «Биоконт-гемоглобин» (ООО «Агат-Мед», РФ) (В.М. Погорелов и соавт., 2004). На основі цих показників обчислювали еритроцитарні індекси: середній об'єм еритроциту (MCV), середню кількість та концентрацію гемоглобіну в еритроциті (MCH та MCHC відповідно) (В.М. Погорелов и соавт., 2004). Проводили визначення вмісту ретикулоцитів у крові шляхом суправітального фарбування метиленовим синім (В.М. Погорелов и соавт., 2004). Досліджували осмотичну й кислотну резистентність еритроцитів (М.А. Базарнова и соавт., 1988), а також їх переокисну резистентність (F.C. Jager, 1968). Загальну кількість каріоцитів (цитоз) у кістковому мозку стегнової кістки щурів та мієлограму досліджували за методом П.Д. Горизонтова и соавт. (1983). Вміст Феруму в сироватці крові щурів вивчали в реакції з ференом S за допомогою наборів реактивів «Диакон-ДС» (ЗАТ «Диакон-ДС», РФ). Про рівень ПОЛ в еритроцитах та кістковому мозку судили за вмістом продуктів, які реагують із 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБКАП) (В.Б. Гаврилов и соавт., 1987), визначали активність супероксиддисмутази (СОД) (Т.В. Сирота, 1999) і каталази (М.А. Королюк и соавт., 1988). Вміст відновленого (ВГ) і окисненого глутатіону (ОГ) досліджували за методом Lee Kum-Tatt (L. Kum-Tatt, I.K. Tan, 1974) у модифікації Чернишова (В.Г. Чернышов, 1983). Вміст аскорбінової (АК) та дегідроаскорбінової кислоти (ДАК) досліджували за методом Шпакова (А.Е. Шпаков, 1967). Одержаний цифровий матеріал статистично обробляли за допомогою стандартних комп'ютерних програм Microsoft Excel. Вірогідність різниці визначали за параметричним критерієм t Стьюдента (С.Н. Лапач и соавт, 2000) та непараметричним критерієм «точний метод Фішера» (Е.В. Гублер, 1978).

Результати та їх обговорення. Встановлено, що через 3 год після гострої крововтрати відбувається зниження RBC, Hct і Hb, яке зберігається через 24 та 72 год (табл. 1). У щурів з застосуванням мексидолу через 3 год не реєструється істотних відмінностей RBC, Hct і Hb від контрольної патології. Однак через 24 год тварини з введенням досліджуваного засобу мають ці показники в 1,7-1,8 разу вищі ($p < 0,001$) за такі при крововтраті без фармакологічної корекції. Через 72 год

препарат збільшує RBC у 1,4 рази ($p < 0,001$), Hct та Hb – в 1,5 разу ($p < 0,001$), а через 5 діб забезпечує вищий рівень Hb ($p < 0,002$). За протективним впливом на зазначені показники мексидол перевершує препарат порівняння ГОМК-На: після його застосування через 3 та 24 год більшими є RBC, а через 5 діб – RBC, Hct і Hb ($p < 0,05$).

У щурів, яким вводили мексидол, через 3 та 72 год після гострої крововтрати знижується MCV ($p < 0,02$), а через 5 діб має місце вірогідне зростання MCV та MCH у порівнянні з контрольною патологією. ГОМК-На, застосований як препарат порівняння, через 3 год після крововтрати збільшує об'єм еритроцитів ($p < 0,001$), через 24 год вірогідно підвищує MCH, MCHC та MCV, а через 72 год знижує MCHC ($p < 0,001$) та зберігає підвищений MCV ($p < 0,001$). Це може свідчити про відмінності в динаміці впливу цих засобів на насичення еритроцитів гемоглобіном з перевагою на користь мексидолу наприкінці періоду спостережень.

Таблиця 1

Вплив мексидолу на загальну кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну та гематокрит при гострій крововтраті (M±m)

Термін	Характер впливу	Показники		
		RBC, $\times 10^{12}/\text{л}$	Hb, г/л	Hct, од.
Початок	Інтактні (n=6)	6,02±0,15	110,3±4,0	0,31±0,01
3 год	Крововтрата (n=7)	4,83±0,16 ¹	95,9±0,6 ¹	0,25±0,01 ¹
	Крововтрата+ГОМК-На (n=5)	4,5±0,07 ¹	95,3±2,7 ¹	0,25±0,01 ¹
	Крововтрата+мексидол (n=8)	5,42±0,28 ³	105,6±5,4	0,29±0,02
24 год	Крововтрата (n=11)	3,36±0,47 ¹	61,1±6,0 ¹	0,17±0,02 ¹
	Крововтрата+ГОМК-На (n=5)	4,8±0,25 ^{1,2}	105,0±3,2 ²	0,27±0,02 ²
	Крововтрата+Феррум Лек (n=5)	4,52±0,16 ^{1,2}	83,4±1,7 ^{1,2}	0,25±0,01 ^{1,2}
	Крововтрата+мексидол (n=8)	5,95±0,36 ^{2,3,4}	103,8±5,2 ^{2,4}	0,30±0,02 ^{2,4}
72 год	Крововтрата (n=7)	3,08±0,17 ¹	58,0±2,3 ¹	0,15±0,01 ¹
	Крововтрата+ГОМК-На (n=5)	5,92±0,33 ²	110,3±2,3 ²	0,33±0,01 ²
	Крововтрата+Феррум Лек (n=5)	5,28±0,43 ²	93,2±7,2 ²	0,29±0,02 ²
	Крововтрата+мексидол (n=6)	4,33±0,05 ^{1,2,3}	87,3±1,1 ^{1,2,3}	0,22±0,01 ^{1,2,3,4}
5 діб	Крововтрата (n=12)	6,08 ±0,24	110,6±3,5	0,32±0,07
	Крововтрата+ГОМК-На (n=5)	5,44±0,20	117,7±2,4	0,32±0,01
	Крововтрата+мексидол (n=14)	6,33±0,22 ³	129,4±4,1 ^{1,2,3}	0,37±0,01 ^{1,3}

Примітка. n – кількість спостережень; $p < 0,05$ у порівнянні ¹ – з інтактним контролем; ² – з контрольною патологією; ³ – з референс-препаратом ГОМК-На; ⁴ – з референс-препаратом Феррум Лек; дію Феррум Лек через 3 год та 5 діб не досліджували.

Ефекти профілактичного введення мексидолу при гострій крововтраті щодо основних гематологічних показників «червоної» крові подібні до ефектів препарату заліза Феррум Лек (табл. 1), причому в терміні 24 год після втрати крові під впливом мексидолу RBC, Hct та Hb більше наближуються до норми, ніж аналогічні показники під дією препарату порівняння (відповідно $p < 0,01$; $p < 0,05$ та $p < 0,001$), а через 72 год після крововтрати досліджуваний засіб випереджає Феррум Лек за

насиченням еритроцитів гемоглобіном ($p < 0,005$).

Мексидол не тільки регулює гематологічні показники, а й запобігає змінам резистентності еритроцитів, зумовленим втратою крові. Він зменшує осмотичний гемоліз у концентраціях NaCl 0,80-0,30% через 24 і 72 год, зрушує праворуч максимум реакції кислотного гемолізу через 3 год та 5 діб ($p_{\text{тмф}} < 0,025$) і скорочує її тривалість через 3 год ($p_{\text{тмф}} < 0,025$), а також знижує перекисний гемоліз еритроцитів в 1,4-1,7 разу через 24, 72 год та 5 діб (відповідно: $p < 0,005$; $p < 0,05$ та $p < 0,001$).

У тварин з введенням мексидолу і дослідженням через 3 год від вилучення крові препарат сприяє зниженню вмісту ТБКАП в еритроцитах в 1,4 разу ($p < 0,001$) порівняно з контрольною патологією, але істотно не впливає на активність антиоксидантних ферментів. Через 24 год під впливом даного похідного 3-ГП концентрація ТБКАП в еритроцитах знижується в 1,3 разу ($p < 0,001$), спостерігається підвищення активності СОД ($p < 0,05$) та зниження активності каталази в 1,3 разу ($p < 0,005$) порівняно з крововтратою без фармакологічної корекції. Через 72 год на фоні дії мексидолу вміст ТБКАП та активність антиоксидантних ферментів змінюються подібно до попереднього терміну спостережень. Через 5 діб концентрація ТБКАП у 1,2 разу ($p < 0,05$) нижча за таку при крововтраті без застосування препарату, активність СОД перебуває на рівні контролю, а активність каталази знижується ($p < 0,05$). При цьому антиоксидантна дія мексидолу в еритроцитах через 3 та 24 год істотно не відрізняється від дії ГОМК-Na, а через 72 год та 5 діб перевершує її.

На фоні введення мексидолу через 3 год після крововтрати вміст АК в еритроцитах знаходиться на рівні крововтрати без фармакологічної корекції, через 24 год – зменшується в 2,1 разу ($p < 0,001$), через 72 год – залишається зниженим, а через 5 діб – не відрізняється від значень у групі контрольної патології. Під дією препарату коефіцієнт АК/ДАК у всі строки, крім 3 год, менший за такий при крововтраті без застосування мексидолу. Зміни в редокс-системі аскорбінової кислоти відбуваються одночасно зі змінами глутатіону. Під впливом мексидолу через 3 год від вилучення крові вміст ОГ в еритроцитах зменшується в 1,2 разу ($p < 0,05$), через 24 – перебуває на рівні контрольної патології, через 72 год та 5 діб – знову зменшується ($p < 0,01$). За цих умов співвідношення ВГ/ОГ в еритроцитах вище за патологічний фон через 3 та 72 год.

Отже, профілактичне введення мексидолу запобігає гематологічним порушенням, викликаним гострою крововтратою, протягом усього часу спостережень, але особливо виразно через 24 та 72 год після вилучення крові, сприяє зростанню МСН в окремі строки, підвищує резистентність еритроцитів, знижує вміст ТБКАП і підтримує нормальну активність СОД і каталази, а також знижує концентрацію АК та ОГ, що найбільш помітно в період розпаду порушень, зумовлених вилученням крові (24-72 год). При цьому виразність впливу мексидолу на ключові показники «червоної» крові не поступається такій у препарату порівняння Феррум Лек і співставима з впливом на ці показники ГОМК-Na, причому протективна активність мексидолу в ранні терміни після крововтрати та через 5 діб вища за таку в еталонного антигіпоксанта ГОМК-Na.

При аналізі регенераторної реакції еритрону виявлено, що через 3 год після крововтрати на фоні застосування мексидолу вміст ретикулоцитів не має вірогідної

різниці від значень у групі контрольної патології (рис. 1). Через 24 год він

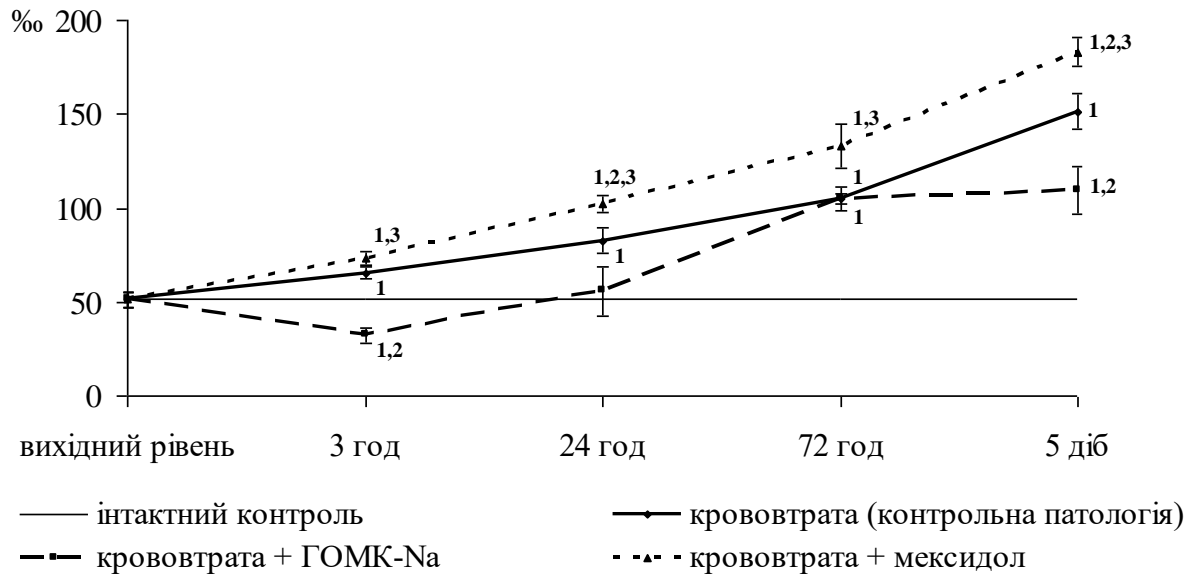


Рис. 1. Вплив мексидолу на вміст ретикулоцитів при гострій крововтраті.

Примітка. Тут та надалі у рис. 2: вірогідна різниця ($p < 0,05$) у порівнянні: ¹ – з інтактним контролем; ² – з контрольною патологією; ³ – з референс-препаратом ГОМК Na.

збільшується в 1,2 разу ($p < 0,05$). Ця спрямованість процесів простежується й через 72 год та 5 діб після крововтрати. Даний показник протягом усього часу спостережень більший за вміст ретикулоцитів при застосуванні ГОМК-Na ($p < 0,05$).

Через 3 та 24 год після крововтрати при застосуванні мексидолу вміст сироваткового Феруму не відрізняється від такого при контрольній патології. Через 72 год він нижче за показники при крововтраті без фармакокорекції в 1,3 разу ($p < 0,05$). Аналогічна спрямованість зрушень має місце й через 5 діб ($p < 0,05$). При цьому через 3 та 24 год рівень Феруму в сироватці крові під дією мексидолу не має відмінностей від такого при застосуванні ГОМК-Na, а через 72 год та 5 діб – нижчий за концентрацію цього елемента при дії референс-препарату ($p < 0,05$ та $p < 0,02$).

Під впливом мексидолу через 3 год від моменту крововтрати цитоз кісткового мозку та загальна кількість еритроїдних елементів не змінюються в порівнянні з крововтратою без введення препарату. Через 24 год досліджуване похідне 3-ГП викликає зростання цитозу кісткового мозку в 1,5 разу ($p < 0,001$), що супроводжується збільшенням сукупної кількості еритроїдних елементів ($p < 0,05$). Через 72 год зміни цитозу й еритроїдного ростка кісткового мозку набувають ще більшої виразності. На фоні застосування мексидолу стан кісткового мозку тварин через 5 діб не відрізняється від такого при вилученні крові без фармакологічної корекції. При введенні ГОМК-Na цитоз кісткового мозку також збільшується, причому через 72 год це збільшення виражене сильніше, ніж у досліджуваного засобу, а в решті строків подібне до нього.

У ранньому періоді спостережень (3 год) мексидол знижує вміст ТБКАП у кістковому мозку в 1,2 разу ($p < 0,05$), зменшуючи зрушення активності каталази ($p < 0,001$) та не змінюючи активність СОД. Через 24 год під його впливом вміст ТБКАП у кістковому мозку щурів знижується в 1,6 разу ($p < 0,001$), активність

каталази – в 1,7 разу ($p < 0,001$), а активність СОД не зазнає змін. Вказана спрямованість процесів зберігається й у наступні терміни спостережень. Водночас антиоксидантний ефект препарату порівняння ГОМК-На набуває максимального розвитку через 24 та 72 год після вилучення крові, коли він знижує вміст продуктів ПОЛ, підвищує активність СОД та зменшує активність каталази в кістковому мозку тварин відносно контрольної патології, однак зазначені зрушення менш виразні.

Під дією мексидолу через 3 год після крововтрати в кістковому мозку відбувається зниження вмісту АК у 1,5 разу ($p < 0,002$) у порівнянні з крововтратою без фармакокорекції. Зменшення концентрації АК реєструється й в наступні терміни експерименту і супроводжується зниженням коефіцієнту АК/ДАК (через 3 та 72 год) відносно патологічного фону. Під впливом мексидолу через 3 год від вилучення крові вміст ВГ збільшується в 1,7 разу ($p < 0,05$), а вміст ОГ зростає в 1,5 разу ($p < 0,02$). У терміни 24 та 72 год у кістковому мозку має місце зниження вмісту ОГ в 1,9 разу ($p < 0,001$) та 1,2 разу ($p < 0,05$) відповідно. Через 5 діб вплив досліджуваного похідного 3-ГП супроводжується як зменшенням концентрації ОГ ($p < 0,05$), так і збільшенням вмісту ВГ у 1,2 разу ($p < 0,02$). Співвідношення ВГ/ОГ у кістковому мозку при корекції крововтрати мексидолом, починаючи з 24 год, перевищує патологічний фон.

Отже, мексидол посилює еритропоез у кістковому мозку тварин після втрати крові, що особливо помітно через 24-72 год; обмежує ПОЛ, підтримує нормальну активність СОД (72 год) і каталази (3-72 год), зменшує порушення концентрації аскорбату та глутатіону та ефективніше відновлює нормальні співвідношення їх окиснених та відновлених форм у мієлоїдній тканині. Він сильніше, ніж еталонний антигіпоксанти з нейротропною активністю, активує регенераторну реакцію кісткового мозку, що виявляється вищим вмістом ретикулоцитів у крові (через 24, 72 год та 5 діб), нижчим рівнем сироваткового Феруму (через 72 год та 5 діб), подібним збільшенням цитозу кісткового мозку (за винятком такого через 72 год), а також виразнішим впливом на вміст ТБКАП і антиоксидантні ферменти (СОД, каталазу) у мієлоїдній тканині (через 24 і 72 год).

Крім впливу на еритроцити, мексидол запобігає розвитку характерних для ЗАС зрушень вагових індексів надниркових залоз, тимусу й селезінки, а також утворенню виразок слизової оболонки шлунка, що найбільш послідовно виявляється через 24 год після крововтрати. Це подібно до ефекту препарату порівняння ГОМК-На, а в терміні 24 год вірогідно перевищує його стосовно маси тимусу та селезінки.

Як бачимо, вивчення фармакодинаміки мексидолу (100 мг/кг маси тіла) за умов гострої крововтрати показує, що в даному випадку відома антистресорна активність препарату поєднується зі стимуляцією еритропоезу й збереженням належного рівня функціональної активності еритроцитів за рахунок гальмування ПОЛ та підтримання пулу аскорбату й глутатіону.

Для уточнення особливостей фармакодинаміки мексидолу в системі еритроцитів його ефекти при гострій крововтраті як анемічному стресі порівнювали з такими при іммобілізаційному стресі. У даному випадку профілактичне введення мексидолу не викликає змін RBC, Hb та Hct через 3 та 24 год від початку дії стресору (табл. 2). Через 48 год на фоні застосування мексидолу RBC знижується в 1,3 разу ($p < 0,05$), Hb та Hct – в 1,1 разу ($p < 0,05$) порівняно з контрольною патологією. Через 5 діб

досліджуваний засіб сприяє зменшенню RBC та Hb в 1,4 разу ($p < 0,01$) та 1,2 разу ($p < 0,001$) без вірогідних змін Hct. Вплив препарату порівняння ГОМК-На на RBC, Hb та Hct при гострому іммобілізаційному стресі не такий послідовний, як у мексидолу, реєструється лише в окремі строки експерименту і характеризується вищими значеннями основних параметрів «червоної» крові через 12 год, 48 год та 5 діб, ніж при введенні мексидолу.

Таблиця 2

Вплив мексидолу на загальну кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну й гематокрит при гострому іммобілізаційному стресі ($M \pm m$)

Термін	Характер впливу	Показники		
		RBC, $\times 10^{12}/л$	Hb, г/л	Hct, од.
Початок	Інтактні (n=15)	4,73 \pm 0,46	142,0 \pm 6,0	0,33 \pm 0,01
3 год	Стрес (n=6)	6,29 \pm 0,58 ¹	184,5 \pm 13,5 ¹	0,34 \pm 0,01
	Стрес+ГОМК-На (n=5)	6,92 \pm 0,28 ¹	165,0 \pm 12,0 ¹	0,35 \pm 0,02
	Стрес+мексидол (n=7)	7,14 \pm 0,56 ¹	180,7 \pm 22,2	0,33 \pm 0,01
24 год	Стрес (n=7)	4,30 \pm 0,30	142,9 \pm 12,0	0,35 \pm 0,01
	Стрес+ГОМК-На (n=5)	4,54 \pm 0,22	158,0 \pm 8,0 ¹	0,37 \pm 0,01 ¹
	Стрес+мексидол (n=7)	3,50 \pm 0,28 ¹	151,6 \pm 10,1	0,37 \pm 0,02
48 год	Стрес (n=6)	5,86 \pm 0,34 ¹	152,4 \pm 8,8	0,35 \pm 0,01
	Стрес+ГОМК-На (n=5)	6,74 \pm 0,13 ^{1,2}	167,4 \pm 3,4 ^{1,2}	0,38 \pm 0,01 ^{1,2}
	Стрес+мексидол (n=6)	4,54 \pm 0,22 ^{2,3}	134,0 \pm 4,8 ^{2,3}	0,32 \pm 0,01 ^{2,3}
5 діб	Стрес (n=6)	6,36 \pm 0,15 ¹	166,2 \pm 5,0 ¹	0,36 \pm 0,01 ¹
	Стрес+ГОМК-На (n=5)	6,21 \pm 0,24 ¹	154,8 \pm 8,0	0,35 \pm 0,02
	Стрес+мексидол (n=6)	4,71 \pm 0,21 ^{2,3}	140,0 \pm 2,4 ^{2,3}	0,33 \pm 0,02

Примітка. n – кількість спостережень; $p < 0,05$ у порівнянні ¹ – з інтактним контролем; ² – з контрольною патологією; ³ – з референс-препаратом ГОМК-На.

Досліджуваний засіб істотно не впливає на еритроцитарні індекси через 3 год після стресу. Через 24 год під його дією спостерігається підвищення MCV ($p < 0,05$), через 48 год – зростання MCH в 1,3 разу ($p < 0,05$) та MCHC в 1,2 разу ($p < 0,05$), що свідчить про збільшене насичення еритроцитів гемоглобіном. Через 5 діб після стресу тварини, яким було введено препарат, також мають підвищені в 1,2 разу MCH та MCHC ($p < 0,05$). Зміни еритроцитарних індексів протягом 5 діб спостережень під дією мексидолу подібні до таких під впливом ГОМК-На, за винятком більшого об'єму еритроцитів (індекс MCV) у терміні 48 год ($p < 0,02$).

Після профілактичного введення мексидолу при гострому іммобілізаційному стресі змінюються показники резистентності еритроцитів. Вплив мексидолу на осмотичну резистентність еритроцитів при стресі проявляється її зростанням у ранньому і зниженням у пізньому (48 год та 5 діб) постстресорному періоді. Препарат модифікує реакцію кислотного гемолізу на всіх її 3-х відрізках залежно від терміну спостережень. На фоні дії мексидолу кислотний гемоліз еритроцитів відразу після стресу зменшується в 1,8 разу ($p < 0,05$) у порівнянні з контрольною патологією, а через 5 діб – вірогідно зростає в 1,9 разу. Значення максимуму реакції відрізняються від контрольної патології через 3 та 12 год, коли цей показник

перевищує патологічний фон в 1,4-1,5 разу ($p < 0,05$), а тривалість реакції скорочується в 1,9 разу ($p_{\text{тмф}} \leq 0,025$) через 5 діб. Під дією мексидолу через 3 і 24 год від початку стресорного впливу перекисний гемоліз у 2 та 1,9 разу менше ($p < 0,01$ та $p < 0,05$) за аналогічні показники при стресі без фармакологічної корекції; через 48 год – не відрізняється від такого при стресі, а через 5 діб – підвищується ($p < 0,001$), що в першому разі може пояснюватись антиоксидантним ефектом мексидолу, а в другому – зменшенням у циркуляції кількості молодих еритроцитів.

На фоні дії досліджуваного похідного 3-ГП через 3 год від початку стресорного впливу відбувається зниження концентрації ТБКАП в еритроцитах в 1,4 разу ($p < 0,05$) за відсутності змін активності антиоксидантних ферментів. Через 24 год після стресу з введенням мексидолу вміст ТБКАП у 4 рази менший ($p < 0,001$), ніж у відповідному терміні стрес-синдрому без фармакокорекції, активність СОД підвищена ($p < 0,001$), активність каталази знижена в 3,7 разу ($p < 0,001$). Через 48 год та 5 діб зазначене спрямування зрушень ПОЛ та активності антиоксидантних ферментів зберігається. Препарат порівняння, як і мексидол, виявляє антиоксидантну дію в периферичній ланці еритроциту при іммобілізаційному стресі, але через 12 та 24 год вона вірогідно менша за ефекти досліджуваного засобу.

Під впливом мексидолу в ранньому постстресорному періоді (через 3 год) в еритроцитах зменшується вміст АК у 3 рази ($p < 0,001$) порівняно зі стресом без фармакокорекції. Починаючи з 24 год і до 5 діб спостережень, мексидол підтримує підвищеними вміст ДАК та сумарну концентрацію АК+ДАК в еритроцитах ($p < 0,001$) порівняно з патологічним фоном, але не впливає на концентрацію АК. Такі зміни співвідношення окремих форм аскорбінової кислоти ведуть до зниження коефіцієнту АК/ДАК. Також мексидол запобігає як раннім, так і пізнім стресорним порушенням вмісту глутатіону. Зокрема, на фоні дії препарату через 3 год вміст ВГ вищий ($p < 0,01$) за такий при стресі без корекції. Через 24 год від початку іммобілізації препарат збільшує вміст і ВГ ($p < 0,001$), і загального глутатіону. У пізні терміни експерименту його дія, в основному, стосується підтримання рівня ВГ. Коефіцієнт ВГ/ОГ зберігається вищим, ніж при стресі без фармакокорекції.

Отже, запобіжне введення мексидолу попереджує індуковані іммобілізацією реакції периферичної ланки еритроциту, що простежується протягом 5 діб і відрізняється від дії ГОМК-На, яка не має настільки послідовного характеру.

Профілактичне застосування мексидолу при гострому іммобілізаційному стресі позначається на регенераторній реакції еритроциту. Під впливом препарату в усі терміни постстресорного періоду, крім 24 год, вміст ретикулоцитів у крові в 1,3-2,6 разу нижчий ($p < 0,05$, $p < 0,01$ або $p < 0,001$), ніж при контрольній патології (рис. 2). Водночас під дією ГОМК-На кількість цих клітин у крові в усі терміни спостережень, крім 48 год, вірогідно більша, ніж при стресі без фармакокорекції, і в 1,5-3,2 разу ($p < 0,001$) перевищує таку при введенні досліджуваного похідного 3-ГП.

Мексидол, застосований перед початком стресорного впливу, через 48 год та 5 діб викликає збільшення концентрації Феруму в сироватці крові в 1,3 разу (відповідно: $p < 0,01$ та $p < 0,001$) у порівнянні з контрольною патологією. ГОМК-На через 48 год підтримує вміст сироваткового Феруму на рівні стресу без фармакокорекції, а через 5 діб – викликає його зниження, що вірогідно нижче в 2,7 та 2,8 разу ($p < 0,001$), ніж при введенні тваринам мексидолу.

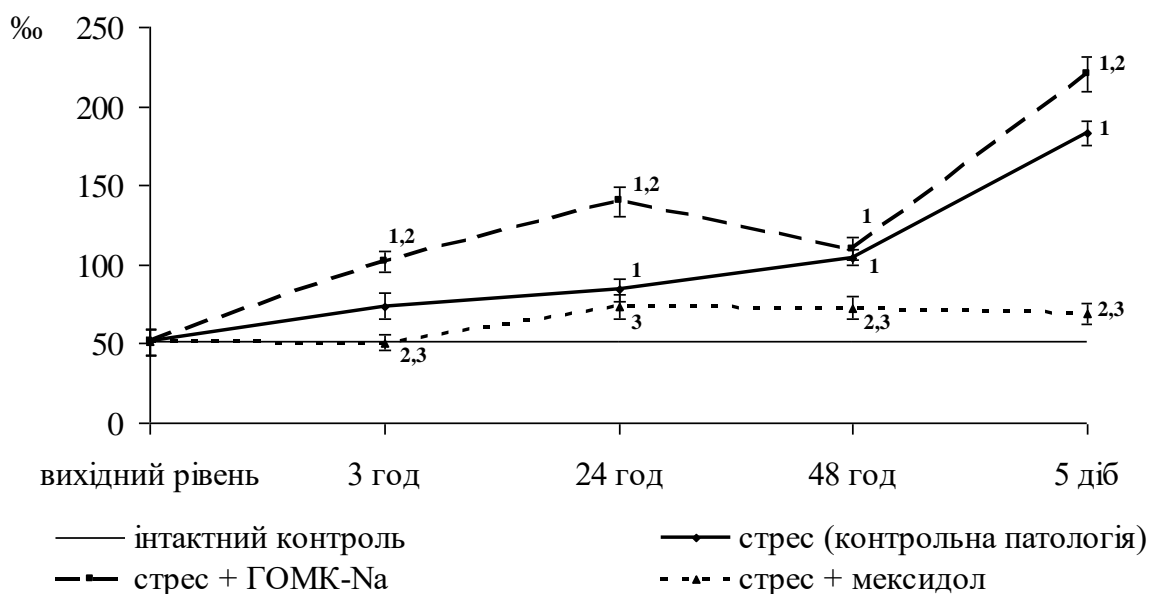


Рис. 2. Вплив мексидолу на вміст ретикулоцитів при гострому іммобілізаційному стресі.

Через 3 год від початку стресу на фоні дії мексидолу загальна кількість мієлокаріоцитів знижується в 1,3 рази ($p < 0,05$) у порівнянні зі стресом без введення препарату. Це зменшення цитозу кісткового мозку не позначається на кількості еритроїдних клітин і виникає за рахунок зменшення числа лімфоцитів. Через 24 і 48 год досліджуваний засіб викликає зниження цитозу кісткового мозку ($p < 0,001$) у порівнянні з патологічним фоном, що супроводжується зменшенням чисельності еритроїдних клітин ($p < 0,05$). Після введення мексидолу стан кісткового мозку тварин через 5 діб розвитку стрес-синдрому характеризується нижчим в 1,4 разу ($p < 0,001$) цитозом порівняно зі стресом без фармакокорекції, та вдвічі нижчою сукупною кількістю еритроїдних клітин ($p < 0,001$), що, вочевидь, свідчить про його здатність запобігати активації медулярного еритропоезу в постстресорному періоді. ГОМК-На, на відміну від мексидолу, зменшує загальну кількість каріоцитів у кістковому мозку щурів, підданих іммобілізаційному стресу, лише через 24 год після стресу. На фоні дії препарату порівняння даний показник через 3 год, 48 год та 5 діб після стресу вірогідно вищий за такий при застосуванні досліджуваного похідного 3-ГП.

У кістковому мозку мексидол сприяє підвищенню активності СОД втричі ($p < 0,001$) у ранньому постстресорному періоді (3 год) без додаткових змін вмісту ТБКАП та активності каталази порівняно з тими, що зумовлені стресом без фармакологічної корекції. Через 24 та 48 год під його впливом вміст ТБКАП знижується ($p < 0,001$), відбувається підвищення активності СОД ($p < 0,001$) за відсутності змін каталазної активності в мієлоїдній тканині. Через 5 діб після стресу ефекти мексидолу виявляються як знижений рівень ТБКАП ($p < 0,005$) та підвищена активність СОД ($p < 0,001$) порівняно зі стресом без фармакокорекції. Препарат порівняння за умов даного експерименту також демонструє антиоксиданту дію в кістковому мозку, але її виразність на початку та наприкінці періоду спостережень менша за таку в досліджуваного похідного 3-ГП.

Коли стрес-синдром розвивається на фоні застосування мексидолу, через 3 год

від початку іммобілізації тварин препарат попереджує зниження вмісту загального аскорбату і ДАК ($p < 0,001$) у кістковому мозку порівняно з патологічним фоном. Аналогічно він діє на ці показники в усі інші терміни спостережень. Водночас вплив даного засобу на рівень АК виражений менше і носить вірогідний характер лише через 48 год після стресу, коли концентрація АК знижується в 1,3 разу ($p < 0,05$). Коефіцієнт АК/ДАК у кістковому мозку – в межах довірчих інтервалів норми.

При застосуванні мексидолу через 3 год після стресу вміст ВГ у кістковому мозку в 1,9 разу ($p < 0,001$) вищий за патологічний фон. У наступні терміни спостережень (через 24 год, 48 год та 5 діб) препарат сприяє підтриманню в кістковому мозку пулу ВГ ($p < 0,001$) та зниженню рівня ОГ ($p < 0,05$) порівняно з контрольною патологією. Співвідношення ВГ/ОГ у цьому випадку протягом усього часу вірогідно вище за таке при стресі без фармакокорекції.

Отже, за умов гострого іммобілізаційного стресу мексидол запобігає не тільки стресорним зрушенням периферичної ланки еритрону, а й активації кістково-мозкового еритропоезу і процесів ПОЛ у мієлоїдній тканині, що відрізняється від дії ГОМК-На на цитоз кісткового мозку та виразності його впливу на ПОЛ і ферменти антиоксидантного захисту в цій тканині. Як і при крововтраті, при гострому іммобілізаційному стресі мексидол запобігає розвитку тріади Сельє, і підтримує її показники на рівні контролю протягом усього періоду спостережень. За впливом на вагові індекси надниркових залоз, тимусу і селезінки, особливо в пізні терміни спостережень, він перевершує референс-препарат.

Водночас при одноразовому введенні інтактним тваринам мексидол не впливає на загальносоматичні параметри і не змінює ключові показники «червоної крові» в порівнянні з контролем. Препарат знижує вміст ТБКАП в еритроцитах без істотного впливу на вміст низькомолекулярних антиоксидантів та антиоксидантні ферменти в еритроцитах, що може пояснюватись його прямою антиоксидантною дією. При цьому мексидол викликає зміни цитозу та кількості еритроїдних клітин у кістковому мозку інтактних щурів, що супроводжується транзиторним зростанням активності ПОЛ та збільшенням вмісту АК і ВГ у ранні строки після введення препарату і може відображати тимчасове збільшення функціональної активності мієлоїдної тканини.

Отже, застосування мексидолу при стресі характеризується антиоксидантним і нейротропним впливом на еритрон, який в обох випадках «протидіє» зрушенням, викликаним стресором, але, коли в ролі стресору виступає нервово-м'язове напруження, препарат запобігає активації еритропоезу, а, коли стресором є втрата крові, – активує його й посилює регенераторну реакцію кісткового мозку. Вочевидь, підхід до призначення мексидолу в людини за різноманітних стресорних ситуацій має бути диференційований із урахуванням його впливу на систему еритрону, причому стимуляція медулярного еритропоезу разом із антиоксидантною та центральною стреспротективною дією робить доцільним застосування цього засобу в клінічних ситуаціях, пов'язаних із гострою крововтратою.

ВИСНОВКИ

2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат (мексидол) має нейротропну,

антигіпоксичну та антиоксидантну активність і широко використовується в клініці, у тому числі при дії на організм людини надзвичайних подразників-стресорів. Незважаючи на численні дослідження фармакодинаміки мексидолу при стресі, його вплив на систему еритроноу за цих умов досліджений недостатньо. Тому, визначення особливостей ефектів мексидолу в системі еритроноу при різному ступені її стресового ушкодження є актуальним для уточнення показань і протипоказань до застосування цього препарату при стресі.

У дисертації наведене теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової задачі – обґрунтування доцільності використання мексидолу в профілактиці стресових станів, викликаних крововтратою та іммобілізацією, з урахуванням його фармакодинаміки в системі еритроноу в залежності від ступеня ушкодження цієї системи.

1. Введення мексидолу (100 мг/кг) перед гострою крововтратою сприяє підтриманню нормальної загальної кількості еритроцитів, Нв та гематокриту через 24-72 год ($p < 0,001$), а також посилює насичення еритроцитів гемоглобіном на 13% ($p < 0,05$) через 5 діб після крововтрати в порівнянні з контрольною патологією. За цих умов препарат знижує перекисний гемоліз еритроцитів в 1,4-1,7 разу ($p < 0,05$ та $p < 0,001$), скорочує тривалість кислотного гемолізу через 3 год, 72 год та 5 діб після вилучення крові та зменшує осмотичний гемоліз еритроцитів, що може бути пов'язано зі здатністю запобігати активації ПОЛ в еритроцитах, підтримувати нормальний рівень активності СОД і каталази, забезпечувати перевагу аскорбінової кислоти над дегідроаскорбіновою через 3 год та зменшувати утворення окисненого глутатіону через 3 і 72 год та 5 діб після крововтрати.

2. Мексидол при гострій крововтраті активує регенерацію еритроїдного ростка кісткового мозку, про що свідчить збільшення цитозу в 1,5 разу ($p < 0,001$) через 24 год й кількості еритроїдних клітин в 1,3 разу ($p < 0,05$) через 24 та 72 год у кістковому мозку тварин, а також зростання числа ретикулоцитів у крові в 1,2 разу ($p < 0,05$) у порівнянні з крововтратою без фармакокорекції, що супроводжуються зниженням вмісту Феруму в сироватці крові, гальмуванням ПОЛ та відповідним відгуком антиоксидантного захисту в кістковому мозку, який за своїм спрямуванням подібний до процесів в еритроцитах.

3. Під впливом мексидолу (100 мг/кг) при гострому іммобілізаційному стресі загальна кількість еритроцитів у крові зменшується в 1,3-1,4 разу ($p < 0,05$), починаючи з 12 год після стресу, що супроводжується зниженням гематокриту; коливаннями рівня Нв зі зменшенням його в 1,1-1,2 разу ($p < 0,05$ та $p < 0,01$) через 2-5 діб, а також поліпшенням насичення еритроцитів гемоглобіном і збільшенням їх об'єму через 12-48 год після стресу у порівнянні з контрольною патологією. При цьому препарат модифікує осмотичну, кислотну та перекисну резистентність еритроцитів залежно від терміну спостережень, а також стримує розвиток оксидативного стресу, попереджуючи накопичення ТБКАП, підтримуючи нормальну активність СОД і каталази, пул відновленого глутатіону та співвідношення форм аскорбінової кислоти в еритроцитах.

4. При гострому іммобілізаційному стресі мексидол запобігає збільшенню цитозу кісткового мозку та постстресорній активації еритропоезу, що реєструється, починаючи з 12 год, набуває найбільшої виразності через 5 діб після стресу, і супроводжується зменшенням вмісту ретикулоцитів у крові в 1,3-2,6 разу ($p < 0,05$ –

$p < 0,001$), підтриманням вищого в 1,3 разу ($p < 0,01$ та $p < 0,001$) вмісту сироваткового Феруму, а в мієлоїдній тканині – обмеженням накопичення ТБКАП, збільшенням активності СОД, вмісту загального аскорбату, дегідроаскорбінової кислоти та відновленого глутатіону в порівнянні з контрольною патологією.

5. Вираженість фармакологічних ефектів мексидолу в системі еритрону має переваги над такою в референс-препаратів. У різні строки при гострій крововтраті мексидол у порівнянні з ГОМК-На (100 мг/кг) ефективніше збільшує число еритроцитів ($p < 0,05$), гематокрит і Hb ($p < 0,05$), активніше збільшує в 1,3-2,3 разу ($p < 0,05$) вміст ретикулоцитів у крові, інтенсивніше пригнічує ПОЛ в еритроцитах, демонструє сильніший вплив на вміст ТБКАП та СОД і каталазу в мієлоїдній тканині, а також інтенсивніше зменшує вміст сироваткового Феруму. При крововтраті ефекти досліджуваного засобу співставимі з ефектами препарату заліза Феррум Лек (0,075 мл/кг), причому через 24 год після втрати крові мексидол випереджає еталонний антианемічний препарат за відновленням загальної кількості еритроцитів, гематокриту та Hb (відповідно $p < 0,01$; $p < 0,05$ та $p < 0,001$), а через 72 год – за насиченням еритроцитів гемоглобіном ($p < 0,005$). За умов гострого іммобілізаційного стресу у різні терміни спостережень вплив мексидолу характеризується нижчими значеннями загальної кількості еритроцитів, гематокриту та Hb ($p < 0,005$ – $p < 0,001$), зниженням вмісту ретикулоцитів в 1,5-3,2 разу ($p < 0,001$), зростанням рівня сироваткового Феруму в 2,7-2,8 разу ($p < 0,001$), нижчим цитозом кісткового мозку та виразнішою дією на вміст продуктів ПОЛ і активність антиоксидантних ферментів у мієлоїдній тканині та еритроцитах у порівнянні з ГОМК-На у дозі 100 мг/кг.

6. Мексидол (дозі 100 мг/кг) при одноразовому введенні інтактним тваринам викликає окремі коливання в стані еритрону (зниження вмісту ТБКАП в еритроцитах, зміни цитозу та кількості еритроїдних клітин у кістковому мозку, транзиторне зростання активності ПОЛ та збільшення вмісту аскорбінової кислоти і відновленого глутатіону в мієлоїдній тканині), які спостерігаються в терміни від 3-х год до 5-ти діб після ін'єкції препарату, не мають такої регулярної направленості, як за умов гострої крововтрати або іммобілізації, і не порушують ключові кількісні параметри «червоної крові» та загальносоматичні показники..

7. Доповнено дані про фармакодинаміку мексидолу (2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату) в системі еритрону при стресі. Показано, що його центральна антистресорна активність та антиоксидантний ефект поєднується з дією на еритрон, але спрямованість ефектів визначається ступенем ушкодження еритрону на етапі ініціації стрес-синдрому: при крововтраті препарат посилює активацію еритропоезу і зберігає належний рівень резистентності еритроцитів та їх антиоксидантного захисту, а при іммобілізації запобігає активації еритропоезу, що веде до підтримання нормохромії еритроцитів і рівня Феруму в сироватці крові порівняно з патологічним фоном .

8. Наявність у мексидолу профілактичної дії стосовно порушень еритрону, викликаних гострою крововтратою, обґрунтовує доцільність подальших клінічних досліджень з метою розширення показань до застосування цього засобу в гематології та медицині невідкладних станів.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Олійник Н.О. Вплив профілактичного введення мексидолу на перекисне окиснення ліпідів у кістковому мозку в стадію тривоги гострого стресу / Н.О.Олійник // Світ медицини та біології. – 2006. – № 3. – С. 32-35.
2. Девяткина Т.А. Регуляторное действие мексидола на уровень гемоглобина при остром стрессе / Т.А.Девяткина, Е.М.Важничая, Н.А.Олейник // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – Т. 70, № 5. – С. 24-26. *Особистий внесок – моделювання експериментальної патології, її корекція, визначення гематологічних показників та біохімічних показників, статобробка.*
3. Гостра крововтрата та її корекція комбінацією мексидола з препаратом заліза / О.М.Важнича, Т.О.Дев'яткіна, Є.В.Мокляк, Н.О.Олійник // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 30-32. *Особистий внесок – пошук літератури, визначення гематологічних показників, підготовка тексту.*
4. Олійник Н.О. Порівняння ефективності мексидолу і препарату заліза «Феррум-лек» при гострій крововтраті / Н.О.Олійник, Є.В.Мокляк, О.М.Важнича // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2008. – Т. 8, вип. 4 (24). – С. 108-111. *Особистий внесок – визначення загальної кількості еритроцитів, гемоглобіну, гематокриту та еритроцитарних індексів, написання частини тексту.*
5. Профілактична дія мексидолу при гострій крововтраті / Є.В.Мокляк, Н.О.Олійник, О.М.Важнича, О.В.Савельєва // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2008. – № 1-2. – С. 18-21. *Особистий внесок – визначення гематологічних показників та їх статистична обробка, підготовка до друку.*
6. Особливості використання білих шурів при експериментальному відтворенні крововтрати / Є.В.Мокляк, Н.О.Олійник, О.М.Важнича, Т.О.Дев'яткіна, В.М.Бобирьов // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2010. – Т. 10, вип. 1 (29). – С. 62-64. *Особистий внесок – моделювання гострої крововтрати, визначення показників.*
7. Власенко Н.О. Вплив 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинату на регенераторну реакцію еритрону при гострій крововтраті / Н.О.Власенко, О.М.Важнича // Фармацевтичний часопис. – 2013. – № 1 (25). – С. 181-185. *Особистий внесок – моделювання гострої крововтрати, визначення лабораторних показників, підготовка тексту статті.*
8. Власенко Н.О. Дія мексидолу на постстресорну активацію еритро- та грануло-моноцитопоезу в кістковому мозку / Н.О.Власенко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 1 (32). – С. 39-43.
9. Власенко Н.О. Вміст глутатіону в еритроцитах та кістковому мозку тварин при застосуванні мексидолу за умов гострого стресу / Н.О.Власенко // Запорожський медичний журнал. – 2013. – № 2 (77). – С. 10-13.
10. Патент на корисну модель №32193, Україна, МПК А61К 31/44. Спосіб фармакологічної корекції постгеморагічної анемії / Важнича О.М., Олійник Н.О., Мокляк Є.В. (UA); заявники та власники Важнича О.М., Олійник Н.О., Мокляк Є.В. (UA). – № u200714021; заявл. 13.12.2007; опубл. 12.05.08; бюл. №9, 2008. – 4 с. *Особистий внесок – визначення кількості еритроцитів, гемоглобіну, гематокриту*

та еритроцитарних індексів у піддослідних тварин, підготовка опису патенту.

11. Олійник Н.О. Постстрессорна стимуляція еритропоезу і вплив на неї мексидолу / Н.О.Олійник // X Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих учених : матеріали конгресу, 11-13 травня 2006 р., Тернопіль. – Тернопіль, 2006. – С. 230.
12. Олійник Н.О. Особливості дії мексидолу на кровотворення у стадії резистентності загального адаптаційного синдрому / Н.О.Олійник // Фармакологія 2006 – крок у майбутнє : III Нац. з'їзд фармакологів України : тези доповідей, 17-20 жовтня 2006 р., Одеса. – Одеса, 2006. – С. 129.
13. Мексидол как универсальный стресс-протектор / Т.А.Девяткина, Е.М.Важничая, Н.А.Олейник // Фармакология – практическому здравоохранению : III съезд фармакологов России: материалы съезда, 23-27 сентября 2007 г., Санкт-Петербург // Нейрофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7, спец. вып., ч. I. – 1-1630.
14. Олейник Н.А. Состояние эритроцитарного звена неспецифической резистентности при остром стрессе / Н.А.Олейник, Т.А.Девяткина, Е.М.Важничая, Е.В.Мокляк // Рослинні поліфеноли та неспецифічна резистентність : II симпозиум: матеріали симпозіума, 2-3 жовтня 2008 р., Одеса // Вісник стоматології. – 2008. – № 4 (64) (спецвипуск). – С. 29-30.
15. Новые аспекты фармакодинамики мексидола, связанные с его действием при острой кровопотере / Т.А.Девяткина, Е.М.Важничая, Н.А.Олейник, Е.В.Мокляк // XVI Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» : Сборник материалов конгресса (тезисы докл.), 6-10 апреля 2009 г., Москва. – М., 2009. – С. 648-649.
16. Мокляк Є.В. Особливості дії мексидолу на еритроцити в стадію загального адаптаційного синдрому / Є.В.Мокляк, Н.О.Олійник // Актуальні проблеми сучасної медицини : II (63) Міжнародний конгрес студентів і молодих вчених : матеріали конгресу, 4-6 листопада 2009 р., Київ // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2009. – № 3. – С. 340-341.
17. Олейник Н.А. Влияние мексидола на эритропоез при стрессе и кровопотере в условиях эксперимента / Н.А.Олейник, Е.М.Важничая, Т.А.Девяткина, Е.В. Мокляк // XVII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» : Сборник материалов конгресса (тезисы докл.), 12-16 апреля 2010 г., Москва. – М.: ЗАО РМЦ «Человек и лекарство», 2010.– С. 693.
18. Важничая О.М. Застосування похідного 3-оксипіридину для профілактики гематологічних порушень, індукованих гострою крововтратою / О.М.Важничая, Н.О.Власенко, Є.В.Мокляк // Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 178-2012. – К. : МОЗУ, Укрмедпатентінформ. 2012. – 2 с.

АНОТАЦІЯ

Власенко Н.О. Вплив 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату (мексидолу) на стан еритроцитів при крововтраті та іммобілізаційному стресі (експериментальне дослідження).

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України. – Харків, 2014.

Дисертація присвячена фармакологічній корекції порушень еритропоезу та

морфофункціонального стану еритроцитів, викликаних надзвичайними подразниками, за допомогою профілактичного застосування 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату (мексидолу) у дозі 100 мг/кг.

Показано, що 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат, введений перед гострою крововтратою сприяє підтриманню нормальної кількості еритроцитів (RBC), вмісту гемоглобіну (Hb) та гематокриту (Hct) після вилучення крові, а також посилює насичення еритроцитів Hb у стадію кістково-мозкової компенсації. За цих умов препарат активує регенерацію еритроїдного ростка кісткового мозку, про що свідчить збільшення цитозу і кількості еритроїдних клітин у кістковому мозку тварин, а також зростання числа ретикулоцитів у крові, що супроводжуються зниженням вмісту Феруму в сироватці крові. Під впливом 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату при гострому іммобілізаційному стресі RBC у крові зменшується, що поєднується зі зниженням Hct; коливанням рівня Hb та поліпшенням насичення еритроцитів гемоглобіном. За цих умов препарат запобігає постстресорній активації еритропоезу, що набуває найбільшої виразності через 5 діб після стресу. Він запобігає зниженню вмісту сироваткового Феруму. Як при крововтраті, так і при іммобілізаційному стресі досліджуване похідне 3-гідроксипіридину попереджує розвиток загальносоматичних маркерів стресу, стримує розвиток оксидативного стресу в еритроцитах та кістковому мозку. Водночас характер його дії визначається ступенем ушкодження еритрона на етапі ініціації стрес-синдрому: при крововтраті препарат посилює активацію еритропоезу і зберігає належний рівень резистентності еритроцитів та їх антиоксидантного захисту, а при гострому іммобілізаційному стресі запобігає активації еритропоезу, що веде до підтримання нормохромії еритроцитів і рівня Феруму в сироватці крові.

Ключові слова: 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат, мексидол, еритрон, еритроцити, кістковий мозок, крововтрата, стрес.

АННОТАЦІЯ

Власенко Н.А. Влияние 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината (мексидола) на состояние эритрона при кровопотере и иммобилизационном стрессе (экспериментальное исследование).

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины. – Харьков, 2014.

Диссертация посвящена фармакологической коррекции нарушений эритропоеза и морфофункционального состояния эритроцитов при действии на организм чрезвычайных раздражителей с помощью 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината (мексидола).

В ходе экспериментов на 248 белых крысах-самцах воспроизведены острая кровопотеря и острый иммобилизационный стресс. 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат вводили животным в дозе 100 мг/каг внутривенно за 30 минут до начала стрессорного воздействия. В различные сроки после кровопотери или иммобилизации, начиная с 3-х часов и до 5 суток, определяли общее число эритроцитов в крови (RBC), общий гемоглобин (Hb), гематокрит (Hct),

подсчитывали эритроцитарные индексы, изучали осмотическую, кислотную и перекисную резистентность эритроцитов. О регенераторной реакции эритрона судили по количеству ретикулоцитов в крови, цитозу костного мозга и характеру миелограммы. Определяли уровень сывороточного железа, изучали показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эритроцитах и костном мозге, а именно содержание продуктов, которые реагируют с 2-тиобарбитуровой кислотой, активность супероксиддисмутазы и каталазы, содержание глутатиона, аскорбиновой кислоты и их фракций.

Показано, что мексидол при острой кровопотере способствует поддержанию нормального уровня RBC, Hb и Hct в крови, а также увеличивает насыщение эритроцитов гемоглобином в стадию костно-мозговой компенсации. В динамике восстановительного периода после потери крови препарат активизирует регенераторную реакцию эритроидного ростка кроветворения, что проявляется увеличением цитоза костного мозга и количества эритроидных клеток в нем, а также повышением числа ретикулоцитов в крови и снижением уровня сывороточного железа по сравнению с кровопотерей без фармакокоррекции.

Под влиянием изучаемого производного 3-гидроксипиридина при иммобилизационном стрессе RBC в крови уменьшается, Hct снижается, Hb имеет колебания в зависимости от срока наблюдения, а насыщение эритроцитов гемоглобином улучшается по сравнению с контрольной патологией. В этих условиях препарат предупреждает постстрессорную активацию эритропоэза, что наиболее выражено через 5 дней после стресса. Он достоверно уменьшает падение уровня сывороточного железа, обусловленное действием стрессора.

Фармакдинамика мексидола в системе эритрона имеет преимущества перед действием препаратов сравнения. При острой кровопотере он эффективнее, чем натрия оксибутират (100 мг/кг), увеличивает RBC, Hct и Hb, интенсивнее повышает число ретикулоцитов в крови, активнее тормозит ПОЛ в эритроцитах и миелоидной ткани. При иммобилизационном стрессе влияние мексидола характеризуется более низкими значениями RBC, Hct, Hb, числа ретикулоцитов крови и цитоза костного мозга, повышенным содержанием сывороточного железа и более выраженными изменениями ПОЛ в системе эритрона по сравнению с таковыми при введении натрия оксибутирата. При кровопотере эффекты мексидола сопоставимы с действием препарата железа Феррум Лек (0,075 мл/кг).

Как при кровопотере, так и при остром иммобилизационном стрессе мексидол предупреждает развитие общесоматических маркеров стресса (триады Селье). Он ограничивает развитие оксидативного стресса в эритроцитах и костном мозге животных, что характеризуется снижением концентрации интермедатов ПОЛ, поддержанием нормального соотношения восстановленных и окисленных фракций глутатиона и аскорбиновой кислоты, а также активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы и каталазы.

В обоих случаях антиоксидантные и нейротропные свойства мексидола «противодействуют» сдвигам в системе эритрона, вызванным стрессором. В то же время направленность эффекта определяется степенью повреждения эритрона на этапе инициации стресс-синдрома: при кровопотере изучаемый препарат усиливает активацию эритропоэза и поддерживает надлежащий уровень резистентности и

антиоксидантной защиты эритроцитов, а при иммобилизационном стрессе уменьшает постстрессорную активацию эритропоэза, обеспечивая нормохромию эритроцитов и нормальный уровень железа в сыворотке крови.

Ключевые слова: 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат, мексидол, эритрон, эритроциты, костный мозг, кровопотеря, стресс.

SUMMARY

Vlasenko N.O. Influence of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate (mexidol) on the state of erythron in blood loss and immobilization stress (experimental study).

The thesis for a Candidate of Pharmaceutical Sciences Degree by the specialty 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy of Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv, 2014.

The thesis is devoted to pharmacological correction of disturbances of erythropoiesis and morphofunctional state of erythrocytes caused by extreme stimuli by prophylactic use of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate (mexidol) at the dose of 100 mg/kg.

It is shown that 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate administered before the acute blood loss contributes to maintenance of normal red blood cells count (RBC), hemoglobin (Hb) and hematocrit (Hct) after removal of blood and increases the saturation of erythrocytes by Hb during the stage of bone marrow compensation. Under these conditions, the drug activates the regeneration of bone marrow erythroid sprout as evidenced by an increase of cytolysis and the number of erythroid cells in the bone marrow of animals, as well as growth in the count of reticulocytes in the blood, accompanied by decreased iron content in the blood serum. In acute immobilization stress under the influence of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate RBC in the blood decreases, that coupled with a decrease in Hct; fluctuations in Hb levels and improved erythrocytes saturation by hemoglobin. Under these conditions, the drug prevents post-stress activation of erythropoiesis that gets the most expressive in 5 days after stress. It prevents the decrease of iron concentration in blood serum. Both under the blood loss and during immobilization stress, studied 3-hydroxypyridine derivative prevents the development of somatic markers of stress and limits the development of oxidative stress in the erythrocytes and bone marrow. However, the nature of its action is determined by the degree of erythron damage at the stage of initiation of the stress syndrome: in the blood loss, the drug promotes erythropoiesis activation and maintains an appropriate level of resistance and antioxidant protection of erythrocytes, but in the immobilization stress, it prevents post-stress activation of erythropoiesis leading to maintenance of erythrocytes normochromia and normal iron levels in blood serum.

Keywords: 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate, mexidol, erythron, red blood cells, bone marrow, blood loss, stress.