ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Гіпоксія (Г) – один з найбільш поширених процесів, який становить основу багатьох захворювань або супроводжує їх (Л.Д. Лукьянова, 1990; С.А. Сергееева, 1991; В.С. Лаврова, 1994; Г.Г. Жданов, 1995; В.Д. Лукьянчук, 1998; А.В. Смирнов, 1998). Особливе місце серед станів Г посідає ішемія різних органів - серця, мозку, легень та ін. (Т.Ю. Макаревич, 1997). Значну актуальність в наш час набули ішемічна хвороба серця та судинна патологія головного мозку, які стали одними з основних причин інвалідизації та смерті людини (М.Б. Маньковский, 1996; О.Ф. Возіанов, 1996; Т.Ю. Макаревич, 1997). Тому антигіпоксичні препарати займають чільне місце в системі патогенетичного лікування гіпоксичних та ішемічних станів.

Незалежно від виду Г в основі характерних для неї розладів лежать енергодефіцит та активація вільнорадикальних процесів (Л.Д. Лукьянова, 1991), тому логічно, що одним з ефективних шляхів захисту від нестачі кисню є застосування антигіпоксантів (Аг), які повинні, в першу чергу, забезпечити корекцію енергетичного обміну і стабілізацію клітинних та субклітинних мембран. Для профілактики та лікування гіпоксичного синдрому (ГС) використовуються як специфічні: гутимін, амтизол, емоксипін, цитохром С, пірацетам, натрію оксибутират та ін.), так і неспецифічні: барбітурати, нейролептики та вазодилататори (пентоксифілін, но-шпа), адрено – та симпатоміметики, антиоксиданти, блокатори кальцієвих каналів, інгібітори циклооксигеназ, стабілізатори мембран та ін. Аг. Незважаючи на великий арсенал Аг проблема фармакокорекції порушень, які розвиваються при ГС, ще не вирішена. Це пов'язано з незавжди достатньою ефективністю препаратів даної групи, наявністю у них побічних ефектів (у пентоксифіліну – зниження артеріального тиску, алергічні реакції, набряки; натрію оксибутирату - блювота, порушення дихання; емоксипіну – помірне підвищення артеріального тиску, збудження або сонливість, висипки на шкірі; пірацетаму – роздратованість, диспепсичні явища, головна біль, порушення сну, загострення ішемії серця), які обмежують їх використання (М.Д. Машковский, 2002). Тому пошук та розробка нових високоефективних та безпечних Аг є нагальною задачею.

В останні роки в науковій літературі все частіше наголошується про перспективність використання в клінічній практиці лікарських препаратів з політропними фармакологічними властивостями, що може забезпечити необхідний рівень функціонування органів та систем (А.А. Абдуллаев и соавт., 1994; С.Г. Бурчинський, 2001; В.И. Погорелов и соавт., 2001; А.М. Демченко, 2001; В.Ф. Шенгур, 2001; О.І. Волошин та співавт., 2003). Цінність таких лікарських засобів полягає, в першу чергу, в тому, що вони дають змогу

усунути поліпрагмазію, при якій не виключена взаємодія ліків з виникненням ускладень (И.С. Чекман, 1980; Я.Я. Балткайс, В.А. Фатеев, 1991).

До числа препаратів з політропними властивостями відноситься вітчизняний спазмолітик вінборон (ресинтезований на НВЦ „Борщагівський ХФЗ" фенікаберан) (Л.В. Беспалько і співавт., 1998). Вінборону притаманний широкий спектр фармакологічних властивостей – знеболююча, антиоксидантна, протиішемічна, антиагрегантна, протизапальна, протиаритмічна, імуномодулююча, здатність стимулювати мікроциркуляторні та репаративні процеси (Н.Г. Степанюк, 2000; Г.І. Степанюк і співавт., 2002, С.В. Сергеєв, 2002, О.С. Пашинська, 2004), що свідчить про перспективність його вивчення в якості Аг.

Протигіпоксичні властивості вінборону раніше не досліджувались, що і стало підставою для проведення цієї роботи.

Зв'язок роботи з науковиим програмами, планами, темами. Робота виконана в рамках Держбюджетної наукової роботи Вінницького національного медуніверситету ім. М.І. Пирогова (ВНМУ) по темі: «Експериментальне обгрунтування доцільності застосування бензофурокаїну, вінборону та тіотріазоліну як лікарських засобів з політропними фармакологічними властивостями при гострих та хронічних запальних процесах» (№ Державної реєстрації 0199U004043).

Мета і задачі дослідження. Мета - експериментально обгрунтувати доцільність застосування вінборону для профілактики порушень, які виникають при Г та дослідити механізми його дії.

Для досягнення мети були поставлені наступні **задачі**:

1. Встановити антигіпоксичні властивості вінборону на моделях гострих ГС (гострої гіпобаричної Г, Г замкнутого простору, циркуляторної Г та гемічної Г) та порівняти їх з Аг різних фармакологічних груп (ноотропи, неінгаляційні наркозні засоби, засоби, що покращують мозковий кровообіг, Аг).

2. Розробити оптимальний дозовий режим застосування вінборону в умовах Г замкнутого простору з екстраполяцією на людину.

3. Дослідити фармакокінетику вінборону при пероральному введенні в організм на моделі експериментальної гострої гіпоксичної гіпоксії (ГГГ).

4. Встановити фармакопрофілактичну ефективність вінборону в умовах хронічної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією (ХГГ з гіперкапнією).

5. Дослідити механізми протигіпоксичної дії вінборону.

6. Обгрунтувати доцільність застосування вінборону в якості засобу для профілактики порушень гіпоксичного генезу.

Об'єкт дослідження – патологічні зміни, що виникають в організмі при ГС.

Предмет дослідження – антигіпоксичні властивості вінборону.

Методи дослідження. В роботі використані фармакологічні, патофізіологічні, фармакокінетичні, біохімічні, морфологічні, математичні та статистичні методи.

Наукова новизна отриманих результатів.

У роботі вперше теоретично обгрунтована та експериментально доведена на різних моделях Г доцільність застосування вінборону, як лікарського засобу з політропними фармакологічними властивостями, для профілактики порушень, що виникають при ГС. Встановлено, що за величиною антигіпоксичної активності ($ЕД_{50}$) вінборон майже в 17 разів перевершує пентоксифілін, співставляючись з емоксипіном на моделі Г замкнутого простору. Вперше доведено, що профілактична дія вінборону в умовах ХГГ з гіперкапнією проявляється зростанням фізичної витривалості, відновленням електричної стабільності міокарду, попередженням дистрофічних та проліферативних процесів у внутрішніх органах дослідних тварин. За фармакопрофілактичною ефективністю вінборон перевершує пентоксифілін. Механізм протигіпоксичної дії вінборону пов'язаний з вазодилататорним ефектом, спроможністю стимулювати мозковий кровотік та метаболічні процеси в життєво важливих органах (ЖВО), гальмівним впливом на процеси перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) на тлі зростання активності антиоксидантної системи (АОС).

Практичне значення одержаних результатів.

Експериментально обгрунтована доцільність застосування вінборону як лікарського засобу з політропними фармакологічними ефектами для профілактики порушень гіпоксичного генезу. Розроблено оптимальний режим дозування вінборону з екстраполяцією на людину в умовах гіпоксичних станів. Результати проведеного дослідження впроваджено в педагогічний процес кафедри фармакології та патологічної фізіології ВНМУ, кафедр фармакології Луганського, Тернопільського, Запорізького, Буковинського державних медичних університетів та Львівського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно проведено інформаційний пошук, аналіз наукової літератури за темою дисертації, визначені задачі і мета дослідження, опрацьовані моделі, згідно з якими особисто виконано експериментальні дослідження, здійснено статистичну обробку отриманих даних та оформлення їх у вигляді таблиць і рисунків, проаналізовано результати досліджень, сформульовано основні положення та висновки роботи. Гістологічні дослідження автором проведені при консультативній допомозі доцента кафедри патологічної анатомії ВНМУ В.Т.

Рауцкієне та завідувача кафедри гістології ВНМУ проф. М.С. Пушкаря; біохімічні дослідження виконані на базі лабораторії кафедри загальної та біологічної хімії ВНМУ (зав. проф. О.О. Пентюк).

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи доповідались на науково - практичній конференції «Медицина будущего» (Краснодар – Сочи, 2002); міжнародній науково-практичній конференції «Клінічна фармація: 10 років в Україні» (Харків, 2003), міжнародному симпозіумі «Актуальні питання сучасної медичної допомоги населенню» (Чернівці, 2003); науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (Вінниця, 2004); XI Російському національному конгресі «Человек и лекарство» (Москва, 2004); X-ій науковій університетській (XXXX-ій вузівській) науково-практичній конференції молодих учених та фахівців (Вінниця, 2004), IV Українській міжнародній науково - практичній конференції з клінічної фармакології (Вінниця, 2004), на розширеному засіданні наукових товариств фармакологів, патофізіологів, біохіміків та морфологів ВНМУ ім. М.І. Пирогова 23.11.2004.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 12 наукових робіт, з них 6 статей в фахових журналах ВАК України та 6 тез у збірниках праць з'їздів і конференцій.

Структура та об'єм дисертації. Матеріали дисертації викладені на 140 сторінках рукопису і складаються із вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали і методи дослідження», п'ятьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел. Покажчик літератури містить 379 вітчизняних та 77 зарубіжних джерел. Робота ілюстрована 15 таблицями та 28 рисунками, з яких 23 мікрофотографії.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали, моделі і методи дослідження. Експерименти проведено на 692 нелінійних білих щурах обох статей масою 130 – 400 г, 23 кішках обох статей масою 3,5 - 5 кг та 70 білих мишах масою 17-32 г. Всі тварини утримувались у віварії ВНМУ на стандартному водно-харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі. Тварини отримували стандартне харчування у вигляді збалансованого гранульованого корму за встановленими нормами. Дослідження проводили в лабораторії кафедри фармакології ВНМУ ім. М.І. Пирогова, сертифікованої Державним фармакологічним центром МОЗ України (посвідчення №51 від 30. 05. 2002) з врахуванням методичних рекомендацій

ДФЦ МОЗ України “Доклінічні дослідження лікарських засобів” (О.В. Стефанов, 2001).

В дослідах використовували ін’єкційну лікарську форму вінборону у вигляді ліофілізованого порошку по 0,01 в ампулах (НВЦ “Борщагівський ХФЗ”). Протигіпоксичну дію вінборону порівнювали з відомими Аг: розчини натрію оксибутирату 20% (Ризький ФЗ, Латвія), емоксипіну 1% (“Белмедпрепарат”, Росія), пентоксифіліну 2% (Дарниця, Україна), пірацетаму 20% (Дарниця, Україна), кавінтону (Gedeon Richter, Угорщина).

Г замкнутого простору моделювали шляхом розміщення щурів у ізольовані гермооб'єми (V=0,001 $м^3$). Спостереження за тваринами проводили до моменту їхньої загибелі з наступним розрахуванням коефіцієнту захисту - Кз (В.Д. Лук'янчук і співавт., 2002). Антигіпоксичну активність вінборону, емоксипіну та пентоксифіліну оцінювали за показником $ЕД_{50}$ (середньоефективна доза препарату, яка сприяла збільшенню тривалості життя експериментальних тварин на 50% по відношенню до контрольної групи), яку розраховували графічно за методом Литчфілда-Уілкоксона (М.Л. Беленький, 1963). Досліджувані препарати вводили одноразово внутрішньоочеревинно (в/о) за 1 год до початку моделювання Г в дозах: вінборон - 2,3 - 18,5% від $ЛД_{50}$; емоксипін – 2,5 - 20 мг/кг, пентоксифілін – 50,0 - 200,0 мг/кг маси тіла щурів, в терапевтично ефективних дозах, запозичених з літератури (В.В. Юшкова, 1999; В.Е. Погорелый, 1999; І.П. Бєлоусова, 2000; О.А. Коробков, 2002). Ефективність препаратів оцінювали за показником середньої тривалості життя, а також за перебігом клінічної картини.

Циркуляторну Г (ішемію) мозку відтворювали на наркотизованих (тіопентал – натрій 70 мг/кг в/о) щурах шляхом оклюзії обох загальних сонних артерій. Вінборон, натрію оксибутират, пірацетам, емоксипін, пентоксифілін вводили одноразово за 1 год в/о до створення гострого порушення мозкового кровооообігу (ГПМК). Фармакопрофілактичну ефективність досліджуваних препаратів на даній моделі Г оцінювали за динамікою показника летальності щурів, а також клінічними симптомами перебігу ГПМК (В.Д. Лук'янчук та співавт., 2002). Циркуляторну Г (ішемію) мозку моделювали шляхом підведення лігатури під судини під каліпсоловим наркозом (50 мг/кг в/о) за 24 год до моделювання патологічного стану. Препарати вводили одноразово в/о за 60 хв до моделювання ГПМК: вінборон в дозі 6,6 мг/кг (доза, що становить $ЕД_{50}$ при Г замкнутого простору), для референс – препаратів взято оптимальні терапевтично ефективні дози, запозичені з літератури: емоксипін 10 мг/кг, пірацетам 250 мг/кг, пентоксифілін 110 мг/кг, натрію оксибутират 300 та 500 мг/кг (Н.А. Сысолятина, 1998; В.В. Юшкова, 1999; І.П. Бєлоусова, 2000; В.Д. Лук'янчук та співавт., 2002; О.Ю. Бибик, 2002; О.В. Дякова, 2003).

Ефективність досліджуваних лікарських засобів оцінювали за динамікою показника летальності та клінічною картиною перебігу Г.

Стан метаболічних процесів в мозку та серці вивчали на моделі ГГГ у щурів, яку створювали шляхом «підйому» тварин в барокамері на висоту 8000 м над рівнем моря зі швидкістю 50 м/с, експозиція тривала 30 хв. Вінборон (6,6 мг/кг в/ш) та пентоксифілін (116 мг/кг в/ш) вводили з профілактичною метою за 60 хв до початку моделювання ГС в дозах, що дорівнюють їх $ЕД_{50}$ (І.П. Белоусова, 2000; О.В. Дякова, 2003).

Гостру гіпобаричну Г у мишей відтворювали шляхом «підйому» тварин на висоту 8000 м за допомогою спеціальної установки. Піддослідних тварин витримували на даній висоті до загибелі (В.Г. Личко, 2000). Вінборон в дозі 4 - 32 мг/кг; пентоксифілін 50 - 200 мг/кг; пірацетам 100 - 750 мг/кг; емоксипін 5 - 20 мг/кг та натрію оксибутират 50 - 150 мг/кг вводили одноразово в/о за 1 год до моделювання патології (І.П. Бєлоусова, 2000; Р.А. Ахундов, 2001; О.А. Коробков, 2002; О.Ю. Бибик, 2002; Т.А. Скочко-Волкова, 2002).

Гостру гемічну Г моделювали шляхом введення натрію нітриту підшкірно в дозі 120 мг/кг (Н.Ф. Иваницкая, 1975). Вінборон вводили в дозі 6,6 мг/кг та пентоксифілін в дозі 110 мг/кг в/о за 60 хв до введення метгемоглобіноутворювача (І.П. Белоусова, 2000; О.В. Дякова, 2003). Ефективність препаратів оцінювали за зміною часу життя тварин (В.Д. Лук'янчук та співавт., 2002).

ХГГ з гіперкапнією моделювали шляхом «підйому» тварин в барокамері ($V = 0,324$ $м^3$) на висоту 8000 м над рівнем моря зі швидкістю 50 м/с. Експозиція тривала 5 год щоденно на протязі 5 тижнів (Ф.З. Меерсон, 1981). Рівень двоокису вуглецю (CO_2) визначали фотометричним методом. Концентрацію CO_2 (об%) знаходили за калібрувальним графіком (М.Д. Манита, Р.М. Салихджанова, 1980). Вінборон та пентоксифілін вводили в дозах, що дорівнюють їх $ЕД_{50}$, - 6,6 та 100 мг/кг відповідно, з профілактичною метою щоденно внутрішньошлунково (в/ш) за 60 хв до «підйому» тварин в барокамері (І.П. Бєлоусова., 2000; О.В. Дякова, 2003). Електричну стабільність міокарду щурів в умовах ХГГ з гіперкапнією оцінювали за допомогою електростимулятора ЕС – 50-1, який дозволяє наносити “пачку” із 99 тестуючих імпульсів необхідної тривалості в найбільш вразливий період серцевого циклу, який реєстрували на електрокардіографі “Малиш” в другому стандартному відведенні (В.А. Люсов, Н.И. Савчук, 1991; K. Torfgard, J. Althner, 1994). Рівень фізичної виносливості оцінювали за допомогою плавальної проби: враховували тривалість плавання (в с) кожної тварини до повного стомлення (занурювання) у воді з температурою 37^0С з вантажем, що складав 15% маси тіла (Б.Г. Исаев, 1988; А.В. Цибанев, 1991). Дослідження морфологічної структури серця,

легенів, печінки, нирок та наднирників в умовах ХГГ з гіперкапнією проводили після забарвлення гістологічних зрізів гематоксилін-еозином з використанням світлової мікроскопії (Е. Пирс, 1962).

При розробці дозового режиму в умовах гострої Г вінборон вводили в/о з профілактичною метою за 1 та за 2 год до початку моделювання ГС в дозах: 2,0; 4,0; 8,0; 16,0 та 32,0 мг/кг (2,3; 4,6; 9,3; 18,5 та 37% від $ЛД_{50}$). Екстраполяцію доз вінборону на людину проводили за константами біологічної активності (Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев, 1979).

Фармакокінетику вінборону вивчали на інтактних щурах та щурах з моделлю ГГГ. Вінборон вводили одноразово в/ш натще за 15 хв до моделювання Г в дозі 100 мг/кг (близько 12% від $ЛД_{50}$) у вигляді 2% водного розчину. Кров для досліджень брали в обох групах (одночасно у 3-4 тварин) через 15, 30, 60, 120, 240, 360 та 480 хв після введення препарату. Вміст вінборону в плазмі крові (мкг/мл) визначали за методом Р.А. Мусіна та співавт. (2002) з використанням калібрувального графіка.

Вміст аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ), лактату та пірувату в гомогенатах мозку та серця щурів в умовах ГГГ проводили за загальноприйнятими методиками (М.И. Прохорова, 1982). Вміст креатинфосфату (КФ) визначали за методом P. Ergliton et al. (1954) на спектрофотометрі при довжині хвилі 525 нм. Концентрацію глікогену та глюкози визначали методом, описаним В.В. Меньшиковим (1987). Стан ПОЛ оцінювали за вмістом гідроперекисів ліпідів (ГП) (А.А. Романів, І.Д. Стальна, 1988) та малонового диальдегіду (МДА) (І.Д. Стальна, Г.Г. Гаришвілі, 1977), стан АОС - за активністю каталази (М.А. Королюк и соавт., 1988) та супероксиддисмутази (СОД) (В.А. Костюк з співавт., 1990).

ГПМК моделювали у щурів та кішок під нембуталовим наркозом (40 мг/кг в/о) шляхом введення у внутрішню сонну артерію 0,2% завісі лікоподію в крохмальному клейстері (А. Фохт, 1920). Рівень мозкового кровотоку у щурів визначали за допомогою флоуметра Transonic® Animal Research Flowmeters T 106 Series. Периваскулярний датчик, надягнутий на внутрішню сонну артерію, фіксував об'ємну швидкість кровотоку (мл/хв). Результати моніторингу були зафіксовані на жорсткому диску комп'ютера у вигляді графічних даних. Паралельно у кішок з ГПМК визначали динаміку артеріального тиску (АТ) в стегновій артерії (за допомогою датчика Transpac® Pressure Transducer), а також проводили забір крові для визначення артеріо - венозної різниці (АВР) вмісту аміаку та глюкози. Концентрацію глюкози в крові визначали стандартним ортотолуїдиновим методом, аміаку - методом ізотермічної перегонки з наступною реакцією його з реактивом Несслера (В.В. Меньшиков, 1987)

Вивчення вазоділататорної активності вінборону in vitro проведено на кільцевих фрагментах аорти, ізольованих у щурів - самців лінії Вістар. Силу скоротливих реакцій кілець аорти реєстрували в ізометричному режимі. В окремій серії дослідів ділататорні реакції скорочення гладеньких м'язів аорти досліджували на деендотелізованих фрагментах судин, що підтверджувалося повною відсутністю ділататорних відповідей на АХ (В.П. Реутов и соавт., 1997, S.W. Ballinger et al., 2000).

Усі використані одиниці виміру і параметри наведені відповідно до МСО (Г. Ліперт, 1980). Комп'ютерну обробку числового матеріалу проводили із використанням програмного пакета Origin 7.5 (OriginLab Co., USA), EXEL 5.0. При нульовому та 100% значенні показників використовували метод Р.Б. Стрелкова (1998). Зміни вважали статистично вірогідними при $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Дослідження протигіпоксичних властивостей вінборону на різних моделях гіпоксії.

На різних за генезом моделях Г встановлено, що превентивне в/о введення щурам та мишам вінборону, подібно до референс - препаратів, справляло виразну антигіпоксичну дію, що проявлялось подовженням тривалості життя, зниженням показника летальності та покращанням клінічної картини.

На моделі Г замкнутого простору захисна дія вінборону, як і емоксипіну та пентоксифіліну, була дозозалежною (табл.1).

Таблиця 1.

Протигіпоксична ефективність вінборону в порівнянні з іншими ангигіпоксантами (M ± m, n = 7).

Умови досліду	Доза, мг/кг	Середня тривалість життя, хв	Ефектив-ність профілак-тики,%	Кз	ЕД50, мг/кг
Гіпоксія (контроль)	-	41,8 ± 1,21	-	-	-
Вінборон	2,0	49,3 ± 0,96*	+17,9	1,18 ± 1,05	

+ гіпоксія	4,0	56,0 ± 1,42*	+34,0	1,34 ± 1,27	6,6 (2,64÷16,5)
	8,0	66,04 ± 1,84*	+58,0▼	1,58 ± 1,5	
	16,0	56,85 ± 1,51*	+36,0	1,36 ±1,31	
Емоксипін + гіпоксія	2,5	47,65 ± 0,65*	+14,0	1,14 ± 0,93	10,0 (4,25÷23,5)
	5,0	52,67 ± 0,84*	+26,0	1,26 ± 1,0	
	10,0	62,85 ± 0,99*	+51,0▼	1,50 ± 1,06	
	20,0	59,36 ± 1,00*	+42,0	1,42 ± 1,07	
Пентокси-філін + гіпоксія	50,0	52,0 ± 1,03*	+24,4	1,24 ± 1,08	110,0 (73,3÷165)
	100,0	61,4 ± 1,10*	+46,0	1,47 ± 1,11	
	150,0	57,6 ± 1,57*	+37,0	1,38 ± 1,35	
	200	46,39 ± 0,87*	+11,0	1,11 ± 1,01	

Примітка. * - $p \leq 0,05$ відносно контролю.

▼ – $P<0,025$ відносно контролю (розраховано за допомогою точного методу Фішера для чотирьохпільної таблиці)

Найбільшу захисну дію вінборон проявив в дозі 8 мг/кг: середня тривалість життя тварин збільшилась на 58% відносно контролю. Кз становив 1,58 проти 1,5 та 1,47 відповідно для емоксипіну та пентоксифіліну, взятих в оптимальних антигіпоксичних дозах, тобто за величиною Кз вінборон практично співставлявся з референс-препаратами. При цьому за ступенем антигіпоксичної активності (за показником $ЕД_{50}$) вінборон майже в 17 разів переважав пентоксифілін, співставляючись з емоксипіном.

Протигіпоксична дія вінборону чітко проявилась і на моделі циркуляторної Г (ішемії) мозку у наркотизованих щурів (табл. 2).

При цьому за величиною захисної дії в критичний період експерименту (в перші 6 год експерименту) вінборон переважав емоксипін, співставляючись з пірацетамом, натрію оксибутиратом та пентоксифіліном. На 36 год дослідження, коли в контролі показник летальності становив 100%, за ступенем профілактичної дії вінборон практично не відрізнявся від препаратів порівняння.

Таблиця 2.

Вплив вінборону, натрію оксибутирату, емоксипіну, пентоксифіліну та пірацетаму на летальність (%) наркотизованих щурів в умовах циркуляторної гіпоксії мозку (n=10)

Групи тварин	Препарат	Доза, Мг/кг	Строки досліджень, год				
			1	6	12	24	36
1	Контроль	-	40	70	80	80	100
2	Вінборон	6,6	0*[1]	0[*1,3]	10[*1,3,5]	40[*1]	70
3	Емоксипін	10	0[*1]	40[*2]	50[*2]	60	80
4	Пірацетам	250	10	10[*1]	20[*1]	40[*1]	70
5	Пентоксифілін	110	10	30	60[*2]	70	80
6	Натрію оксибутират	500	10	20[*1]	30[*1]	60	70

Примітка. * - статистично вірогідний результат при $p \leq 0,05$. Цифра біля * означає номер групи, з якою проводилось порівняння.

Високий ступінь захисної дії вінборону знайшов підтвердження на моделі циркуляторної Г у ненаркотизованих тварин: попереднє введення вінборону (6,6 мг/кг в/о) повністю запобігало летальності тварин в критичний період експерименту (1-ша год), в той час як в контролі загинуло 60% щурів. При цьому за ефективністю вінборон практично співставлявся з пірацетамом, пентоксифіліном, емоксипіном та натрію оксибутиратом в зазначений період досліду: летальність становила відповідно 10, 20, 10 та 20% ($p \leq 0,05$).

Дозозалежна протигіпоксична дія вінборону чітко проявилась і на моделі гострої гіпобаричної Г у мишей (табл. 3). Найбільшу активність досліджуваного препарату виявлено в дозі 16 мг/кг: Кз становив 2,04. В оптимальній протигіпоксичній дозі вінборон практично співставлявся з емоксипіном, пентоксифіліном, натрію оксибутиратом та пірацетамом за величиною Кз, перевершуючи референс-препарати в активності (по $ЕД_{50}$) відповідно в 1,3; 10,3; 18,6 та 40 разів. Ці дані свідчать про більш високу антигіпоксичну активність досліджуваного лікарського засобу.

На моделі гострої гемічної Г фармакопрофілактична дія вінборону, як і пентоксифіліну, не проявилась.

Таблиця 3.

Протигіпоксична дія вінборону на моделі гострої гіпобаричної гіпоксії (M±m, n=10).

Умови досліду	Доза, мг/кг	Середня тривалість життя, хв	Ефектив-ність профілак-тики, %	Кз	$ЕД_{50}$, мг/кг
Гіпоксія (контроль)	-	2,53 ± 0,41	-	-	-
Вінборон + гіпоксія	4	3,6 ± 0,59	+42	1,42 ± 0,49	5,2 (2,88 ÷ 9,36)
	8	4,21 ± 0,48*	+66▼	1,66 ± 0,43	
	16	5,18 ± 0,54*	+104,7▼	2,04 ± 0,46	
	32	3,49 ± 0,50	+ 38	1,38 ± 0,44	
Пентокси-філін + гіпоксія	50	3,7 ± 0,71	+46	1,46 ± 0,56	97,0 (19,7 ÷ 236,5)
	100	4,07 ± 0,56	+61▼	1,60 ± 0,47	
	125	4,17 ± 0,81	+65▼	1,64 ± 0,62	
	150	4,70 ± 0,65*	+86▼	1,85 ± 0,52	
	200	3,80 ± 0,69	+50▼	1,5 ± 0,55	
Пірацетам + гіпоксія	100	3,18 ± 0,53	+26	1,25 ± 0,46	207,0 (34,5 ÷ 1242,0)
	250	3,99 ±0,66	+58▼	1,57 ± 0,53	
	500	5,11 ± 0,76*	+102▼	2,01 ± 0,59	
	750	4,72 ± 0,53	+86▼	1,86 ± 0,46	
Емоксипін + гіпоксія	5,0	3,76 ± 0,86	+49	1,48 ± 0,65	6,9 (3,63 ÷ 13,11)
	10,0	3,99 ± 1,06	+58▼	1,57 ± 0.77	
	20,0	4,94 ± 0,65*	+95,6▼	1,95 ± 0,52	
Натрію Оксибутират + Гіпоксія	50	3,74 ± 0,72	+48	1,47 ± 0,56	55,0 (12,8÷ 236,5)
	100	4,85 ± 1,06	+92▼	1,91±0,77	
	150	4,55 ± 0,91	+80▼	1,79±0,68	

Примітка. * $p \leq 0,05$ відносно контролю.

▼ – $P<0,025$ відносно контролю (розраховано за допомогою точного методу Фішера для чотирьохпільної таблиці)

Розробка дозового режиму використання вінборону в умовах впливу на організм гіпоксії замкнутого простору. При розробці оптимального режиму дозування вінборону було встановлено, що з усіх випробуваних доз найбільш ефективною виявилася доза 8 мг/кг при одноразовому в/о введенні за 1 год до відтворення ГС: мало місце подовження середньої тривалості життя експериментальних тварин на 58% і покращання перебігу клінічної картини ГС. При цьому, виходячи з функції залежності ефективності препарату від його дози, була обчислена середня ефективна доза препарату ($ЕД_{50}$), яка склала 6,6 мг/кг. Ізоефективна доза вінборону, розрахована за константами біологічної активності (Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев, 1979), для людини склала 1,26 мг/кг.

Дослідження фармакокінетики вінборону при гострій гіпоксичній гіпоксії.

Фармакокінетичні параметри вінборону (100 мг/кг в/ш) у щурів в умовах ГГГ істотно змінюються в порівнянні з інтактними тваринами: на 34% зростає період розподілу препарату в камерах організму ($t_{1/2\alpha}$), в 2,6 рази збільшується об'єм розподілу препарату в центральній камері (V_d). Разом з цим в зазначених умовах спостерігається значне сповільнення виведення вінборону з організму, на що вказує зменшення у 7 разів показника константи елімінації ($К_{el}$), зменшення в 2,6 рази кліренсу (Cl_t), збільшення в 2,6 рази площі під фармакокінетичною кривою (AUC, мкг.хв.мл$^{-1}$) та збільшення в 2,7 рази часу утримання вінборону в плазмі крові щурів (MRT). Отримані дані вказують на те, що гостра Г викликає затримку препарату в організмі та гальмує його елімінацію.

Оцінка фармакопрофілактичної ефективності вінборону в умовах хронічної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією.

Щоденне введення вінборону (6,6 мг/кг в/ш) щурам протягом 35 днів в умовах моделювання ХГГ з гіперкапнією протидіяло порушенню електричної стабільності міокарду. На це вказувало підвищення рівня порогу фібриляції шлуночків серця (ПФШС) на 36 добу майже до рівня інтактних тварин. Ефективність пентоксифіліну (100 мг/кг в/ш) при цьому була значно меншою: ПФШС в зазначений термін виріс лише на 9,4% ($p > 0,05$). В заданих умовах вінборон ефективніше за пентоксифілін посилював фізичну витривалість тварин: вірогідно зростала тривалість плавальної проби відповідно на 107,9% та 58% відносно контролю. Сприятливий вплив вінборону позначився і на мікроструктурі внутрішніх органів щурів. В зазначених умовах вінборон, на відміну від пентоксифіліну, повністю блокував розвиток функціонального виснаження та профілактував виникнення дистрофічних та проліферативних

процесів у легенях, міокарді та наднирниках, покращував в них процеси регенерації.

Вивчення механізмів протигіпоксичної дії вінборону. Для визначення шляхів реалізації антигіпоксичної дії вінборону досліджено його вплив на метаболічні процеси в головному мозку та серці щурів з ГГГ. Встановлено, що профілактичне одноразове введення вінборону (6,6 мг/кг в/ш) щурам з ГГГ, подібно до пентоксифіліну (116 мг/кг в/ш), запобігало виснаженню резервів вмісту макроергів в ЖВО тварин. Рівень АТФ вірогідно зростав відносно контрольних тварин на 31,7% та 43,8%, КФ – на 78,8% та 81,2% відповідно. Превентивне введення вінборону, так само як і пентоксифіліну, сприяло зростанню рівня глюкози в мозку щурів відповідно на 36,7% та 20% ($p \leq 0,05$), практично не впливаючи на її вміст в міокарді (рис.1). Водночас, в умовах ГГГ, вінборон сприяв зростанню вмісту глікогену в міокарді, практично не змінюючи його рівень в мозку, в той час як пентоксифілін викликав вірогідне відновлення вмісту глікогену в ЖВО щурів з ГГГ.

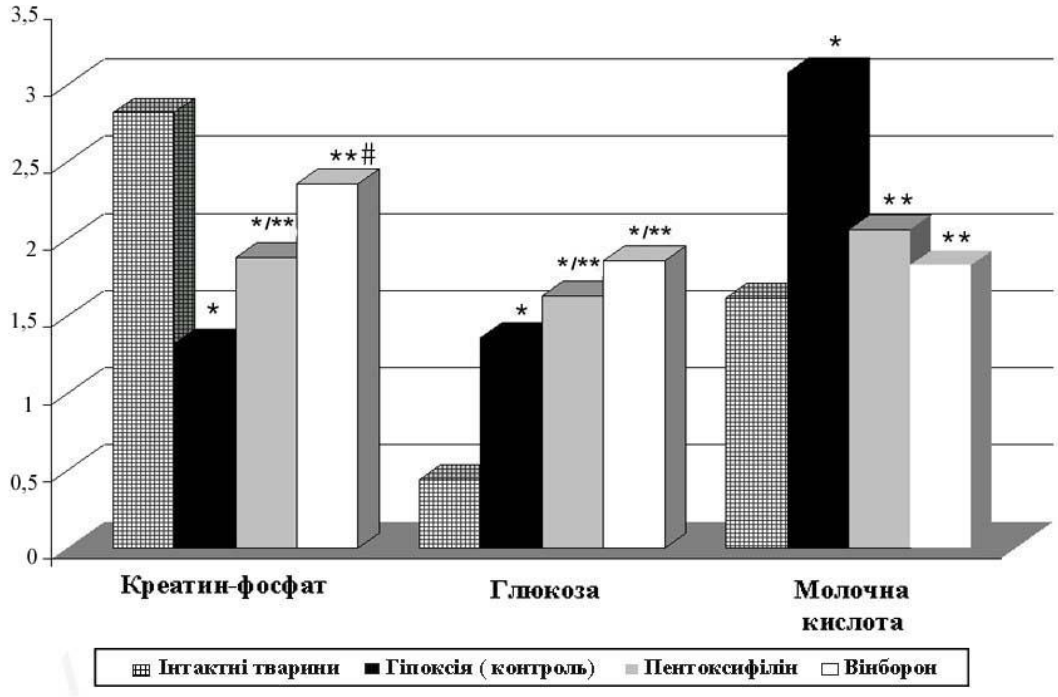

Рис.1. Динаміка КФ, глюкози та молочної кислоти (мкмоль/г) в мозку щурів в умовах ГГГ при профілактичному введенні вінборону та пентоксифіліну.

Примітки: * - $p \leq 0,05$ відносно інтактних щурів; ** - $p \leq 0,05$ відносно контролю; #- $p \leq 0,05$ відносно пентоксифіліну.

Профілактичне введення вінборону, як і пентоксифіліну, профілактувало виникнення цитоплазматичного ацидозу в клітинах головного мозку та серця, про що свідчило зниження рівня молочної кислоти на 40,5% та 41,81% (рис.1) та показника лактат/піруват на 45,02% та 63% відповідно.

Вінборон, подібно до пентоксифіліну, протидіяв зростанню в ЖВО вмісту ГП та МДА на тлі зростання активності ферментів природньої АОС (рис.2).

Рис. 2. Динаміка ГП, МДА, СОД та каталази в мозку щурів в умовах ГГГ при профілактичному введенні вінборону та пентоксифіліну.

Примітки: * - $p \leq 0,05$ відносно інтактних тварин; # - $p \leq 0,05$ відносно контролю.

Профілактичне введення вінборону сприяло зниженню в мозку ГП та МДА на 15,6% та 29,6% відповідно. При цьому спостерігалась активізація СОД в мозку на 33,3% при зниженні каталази в мозку на 32,4% відповідно (рис.2). Аналогічна динаміка зазначених показників оксидантно-антиоксидантної рівноваги на фоні дії вінборону спостерігається і в серцевому м'язі. При цьому за спроможністю відновлювати стан АОС вінборон співставляється з референс-препаратом.

Внутрішньовенне введення кішкам вінборону (3 мг/кг), подібно до кавінтону (5 мг/кг в/в), вірогідно профілактувало зміни кровообігу, редукованого в умовах тромбоемболії: на 20 хв експерименту рівень мозкового кровотоку знизився відносно початкової величини відповідно на 41,8%, 29,5% проти 73,5% у нелікованих тварин. Введення вінборону, на відміну від кавінтону, гальмувало зниження АТ на тлі ГПМК. Здатність препаратів стимулювати об'ємну швидкість мозкового кровотоку супроводжувалось поліпшенням метаболізму в головному мозку, на що вказувала позитивна динаміка АВР за аміаком та глюкозою в крові у кішок з експериментальною тромбоемболією. Таку дію вінборону, як і референс-препарату, можна розцінити як наявність судиннорозширюючого ефекту, що знайшло підтвердження в дослідах in vitro: введення вінборону (10^{-4} - 10^{-8} М) в

омиваючий розчин Кребса викликало стійке та дозозалежне розслаблення скорочених мезатоном кілець аорти, яке тривало зберігалося і після відміни препарату. На кільцях аорти з інтактним ендотелієм спостерігалось повільне та поступове відновлення сили м'язевого скорочення. Розслаблення деендотелізованих фрагментів мало незворотній характер в інтервалі більше 2 год після відміни препарату.

Узагальнюючи результати проведеного дослідження, можна стверджувати, що вінборон, подібно до пентоксифіліну, справляє виразну фармакопрофілактичну дію на тварин на різних моделях ГС. Фармакопрофілактична ефективність вінборону, як і пентоксифіліну, при гострій Г реалізується за рахунок усунення енергодефіциту, спроможності попереджати активацію ПОЛ та стимулювати активність АОС. Важливу роль в антигіпоксичній дії препарату відіграє його стимулюючий вплив на мікрогемоциркуляцію, за рахунок антиагрегантного ефекту та зниження потреби тканин в кисні (Г.И. Степанюк и соавт., 2000). Вінборону притаманна вазодилататорна активність, яка за тривалістю та амплітудою довше зберігається на інтактних судинах.

ВИСНОВКИ

В дисертації наведено нове вирішення наукової задачі щодо фармакопрофілактики порушень, які виникають при ГС, шляхом використання вінборону.

1. Профілактичне одноразове введення вінборону білим мишам та щурам в оптимальних дозах (8 та 16 мг/кг в/о) на моделях Г замкнутого простору та гострої гіпобаричної Г підвищувало тривалість життя тварин на 58 та 104% відповідно ($p \leq 0,5$). В умовах циркуляторної Г у наркотизованих і ненаркотизованих щурів вінборон (6,6 мг/кг в/о) повністю запобігав летальності тварин в критичний період експерименту (загибель більшої половини тварин відповідно на 6 та 1 год досліду). За показником протигіпоксичної активності ($ЕД_{50}$) на моделі Г замкнутого простору вінборон майже в 17 разів перевершує пентоксифілін, співставляючись з емоксипіном: $ЕД_{50}$ відповідно становить 6,6; 110 та 10 мг/кг в/о.

2. Фармакокінетичні параметри вінборону (100 мг/кг в/ш) у щурів з ГГГ вірогідно змінюються відносно інтактних тварин: на 34% зростає період розподілу препарату в камерах організму, в 2,6 рази збільшується об'єм розподілу препарату в центральній камері, сповільнюється виведення з організму, на що вказує зменшення у 7 разів показника константи елімінації,

зменшення в 2,6 рази кліренсу, збільшення площі під фармакокінетичною кривою (у 2,6 рази) та часу утримання вінборону (в 2,7 рази) в плазмі крові.

3. При ХГГ з гіперкапнією введення вінборону (6,6 мг/кг в/ш протягом 35 днів), так само як і пентоксифіліну (100 мг/кг в/ш), вірогідно підвищує фізичну витривалість щурів на 107,9% та 58% відповідно. При цьому вінборон ліпше, ніж пентоксифілін, відновлює електричну стабільність міокарду, блокує розвиток функціонального виснаження та профілактує виникнення дистрофічних та проліферативних процесів у серці, легенях, печінці, нирках та наднирниках тварин. За рівнем фармакопрофілактичної ефективності вінборон перевершує референс-препарат.

4. Протигіпоксична дія вінборону обумовлена вазодилататорним ефектом: в умовах in vitro препарат (10^{-4}- 10^{-8} М) викликає стійке дозозалежне розслаблення скорочених мезатоном кілець аорти. При цьому вазодилататорна активність вінборону більш висока в присутності ендотелію, ніж на деендотелізованих судинах. Вазодилататорна дія вінборону проявляється зростанням на 32% ($p < 0,05$) рівня редукованого (тромбоемболія) мозкового кровотоку у наркотизованих щурів.

5. Антигіпоксична дія вінборону (6,6 мг/кг в/ш), як і пентоксифіліну (116 мг/кг в/ш), обумовлена спроможністю препарату профілактувати порушення метаболічних процесів в ЖВО. Превентивне введення вінборону щурам з ГГГ запобігає виснаженню резервів макроергів в мозку та серці: рівень АТФ зростав відносно контрольних тварин на 31,7% та 43,8% відповідно, КФ – на 78,8% та 81,2% ($p \leq 0,05$) відповідно. При цьому вінборон, подібно до пентоксифіліну, протидіяв розвитку метаболічного ацидозу в ЖВО.

6. Фармакопрофілактична дія вінборону, як і пентоксифіліну, пов′язана з антиоксидантним ефектом. Під впливом вінборону має місце вірогідне зниження в серці та мозку вмісту ГП відповідно на 14,2% та 15,6% ($p \leq 0,05$), МДА - відповідно на 31,5% та 29,6% ($p \leq 0,05$) на фоні зростання активності СОД на 35,7% та 33% відповідно ($p \leq 0,05$) та каталази в міокарді на 14,8% при зниженні її показника в мозку на 32,4% ($p \leq 0,05$). При цьому за величиною антигіпоксичного ефекту вінборон не поступався пентоксифіліну.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Волощук Н.І., Сергеєв С.В., Шаламай А.С. Терапевтична ефективність вінборону при гострому порушенні мозкового кровообігу в експерименті // Ліки.- 2002.- №5-6.- С. 59-62 (Дисертантом особисто проведено експериментальні дослідження, підготовлено матеріал до друку).

2. Дякова О.В. Порівняльна оцінка впливу вінборону та пентоксифіліну на метаболізм головного мозку та серця в умовах гострої гіпоксичної гіпоксії // Вісник Вінницького національного медичного університету.- 2003.- Т.1, №1.- С. 15-17.

3. Дякова О.В., Мудрицький В.Б., Степанюк Г.І., Сулим О.Г. Фармакокінетика вінборону при гострій експериментальній гіпоксії // Вісник Вінницького національного медичного університету.- 2003.- Т.2, №2.- С. 645-647 (Дисертантом особисто проведено експеримент, статистичну обробку результатів та їх оцінку, підготовлено статтю до друку).

4. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Рауцкієне В.Т. Гістоструктурні зміни внутрішніх органів щурів в умовах тренування хронічною гіпоксичною гіпоксією з гіперкапнією та їх корекція вінбороном // Вісник морфології.- 2004.- №10/1.- С. 126-129 (Дисертантом особисто проведено експеримент, інтерпритацію даних, підготовлено матеріал до друку).

5. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Коньков Д.Г., Паршиков О.В. Вивчення ендотелійзалежних механізмів вазоділататорної активності вінборону in vitro // Досягнення біології та медицини.- 2005.- №2(6).- С. 4-8. (Дисертантом особисто проведено експеримент, інтерпритацію даних, підготовлено матеріал до друку).

6. Деклараційний патент на винахід 69111 А, Україна, А61К31/135. Спосіб лікування експериментального гострого порушення мозкового кровотоку / Степанюк Г.І., Дякова О.В., Волощук Н.І., Сергеєв С.В. № 20031211052; Заявл. 5.12.2003 Опубл. 16.08.2004. Бюл.№8 (Дисертантом самостійно здійснено патентний пошук, розроблено схему експерименту, проведено експериментальні дослідження, підготовлено матеріал до друку)

7. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Степанюк А.Г. Фармакопрофілактика вінбороном порушень оксидантно - антиоксидантної рівноваги в мозку та серці щурів при гострій гіпоксичній гіпоксії // Мат. міжнародного симпозіуму “Актуальні питання сучасної медичної допомоги населенню”.- Чернівці.- 2003.- С. 103-106.

8. Дякова О.В., Иванова Н.И. Влияние винборона и трентала на метаболизм головного мозга и сердца крыс при острой гипоксической гипоксии // Мат. научно-практической конференции «Медицина будущего».- Краснодар - Сочи.- 2002.- С.60.

9. Дякова О.В., Мудрицький В.Б., Сулим О.Г. Фармакокінетика вінборону при експериментальній гіпоксії // Мат. міжнародної науково-практичної конференції «Клінічна фармація: 10 років в Україні».- Харків.- 2003.- С. 87;

10. Шеремета Р.О., Дякова О.В., Кирничний А.І. Порівняльна оцінка церебропротекторної дії кавінтону, вінборону, пірацетаму, пентоксифіліну,

емоксипіну та натрію оксибутирату // IV Українська міжнародна науково-практична конференція з клінічної фармакології.- Вінниця, 2004.-С. 166-167.

11. Дякова О.В., Степанюк Н.Г. Ефективність вінборону при гіпоксичних та ішемічних станах в експерименті // Мат. до наукової конференції студентів та молодих вчених.- Вінниця.- 2004.- С. 310.

12. Дякова О.В. Фармакопрофілактична ефективність вінборону на моделі гіпоксії замкнутого простору // Мат. X–ій наукової університетської (XXXX-ій вузівської) науково-практичної конференції молодих учених та фахівців.- Вінниця, 2004.- С. 66.

АНОТАЦІЯ

Дякова О.В. Профілактична ефективність вінборону при гіпоксичних станах (експериментальне дослідження). Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за фахом – 14.03.05. - фармакологія. - Інститут фармакології та токсикології АМН України, Київ, 2005.

На лабораторних тваринах вивчали фармакопрофілактичну ефективність вінборону на моделях гострої та хронічної Г. Встановлено, що вінборон, подібно до пентоксифіліну, справляє виразну протигіпоксичну дію на щурів та мишей в умовах гострих ГС. Це проявляється подовженням життя тварин, зниженням показника летальності та покращанням клінічної картини протікання ГС. Профілактичне одноразове введення вінборону білим мишам та щурам в оптимальних дозах (8 та 16 мг/кг в/о) на моделях Г замкнутого простору та гострої гіпобаричної Г підвищувало тривалість життя тварин на 58 та 104% відповідно ($p \leq 0,5$). За показником антигіпоксичної активності ($ЕД_{50}$) при Г замкнутого простору вінборон майже в 17 разів перевершує пентоксифілін. В умовах ХГГ з гіперкапнією профілактична дія вінборону проявляється підвищенням толерантності до фізичного навантаження, відновленням електричної стабільності міокарду, послаблюються розлади кровообігу, дистрофічні, проліферативні та склеротичні процеси в легенях, серці, печінці, нирках та наднирниках щурів. При цьому за рівнем профілактичної ефективності вінборон переважав пентоксифілін.

Протигіпоксична дія вінборону при ГС реалізується за рахунок нормалізації біоенергетичних процесів та відновлення показників АОС. Водночас, протигіпоксична дія вінборону пов'язана з наявністю судиннорозширюючого ефекту. Вазодилататорна дія вінборону проявляється також зростанням редукованого мозкового кровотоку в умовах тромбоемболії. При цьому вінборон активує метаболічні процеси в головному мозку. Сукупність вказаних фармакологічних властивостей вінборону ймовірно

забезпечує достатньо високу антигіпоксичну дію вінборону на моделях гострих та хронічних ГС.

Ключові слова: гіпоксія, вінборон, пентоксифілін

АННОТАЦИЯ

Дякова О.В. Профилактическая эффективность винборона при гипоксических состояниях (экспериментальное исследование). Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности –14.03.05- фармакология. - Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины, Киев, 2005.

Диссертация посвящена профилактической эффективности винборона при острых и хронических гипоксических состояниях.

На разных моделях ГС (Г замкнутого пространства, циркуляторной Г, острой гипобарической Г) показано, что винборон проявляет достаточно высокую эффективность при профилактическом введении в организм. На это указывало удлинение времени жизни, снижение летальности животных и улучшение клинической картины течения Г. Профилактическое введение винборона (6,6 мг/кг внутрибрюшинно) наркотизированным и ненаркотизированным крысам с циркуляторной Г (двусторонняя перевязка сонных артерий) полностью предотвращало гибель животных в критический период эксперимента (гибель больше 50% животных соответственно на 6 и 1 часе исследования). При разработке оптимального режима дозирования винборона установлено, что наиболее высокую фармакопрофилактическую эффективность винборон проявляет в дозе 8 мг/кг за 1 час до моделирования патологии. При этом среднеэффективная доза для человека составляет 1,26 мг/кг.

В основе профилактического действия винборона в условиях Г лежит его способность нормализовать биоэнергетические процессы в сердце и мозге крыс, снижать интенсивность процессов ПОЛ и повышать активность АОС организма. Важную роль в профилактическом действии винборона играют такие его свойства как стимулирующее влияние на микрогемоциркуляцию (за счет антиагрегантного эффекта), способность усиливать метаболические и репаративные процессы, а также вазодилатирующий эффект. Важно отметить, что по величине профилактического действия винборон сопоставим с пентоксифиллином.

Ключевые слова: гипоксия, винборон, пентоксифиллин.

SUMMARY

Dyakova O.V. – Prophylactic effectiveness of vinboron effects at hypoxic states (experimental study). - Manuscript.

Thesis for obtaining the scientific degree of Candidate of medical sciences in speciality 14.03.05 – Pharmacology.- Institute of Pharmacology and Toxycology AMS of Ukrain, Kyiv, 2005.

The dissertation deals with vinboron prophylactic effectiveness at acute and chronic hypoxic states.

Vinboron synthetized at the scientific production center of Borshshagovsky chemical pharmaceutical plant is a new home spasmolytic drug with polytropic pharmacological properties such as spasmolytic, analgetic, antiaggregation, antiischemic, antihypoxic, antioxydant, antiinflammatory, antiarrhythmic, immunomodulating ones. Vinboron has the ability to stimulate coronary and cerebral blood flow and reparation processes.

Prophylactic effectiveness of vinboron has been studied on the experimental animals on the models of acute and chronic hypoxia. It has been determined that vinboron similar to pentoxifylline produced significant antihypoxic effect on rats and mice in the condition of acute hypoxia. It resulted in length of life and improvment of the course of clinical picture. As to the indices of ED_{50} vinboron is 17 times higher than that of pentoxifylline. In the condition of circulatory hypoxia in the anesthetized and nonanesthetized rats vinboron (6,6 mg/kg) completely prevented the death of the experimental animals in a critical period (the death of more than a half of the animals during the sixth and the first hour of the experiment). In the state of chronic hypoxic hypoxia with hyperkapnia the prophylactic effects of vinboron manifests itself in increase of tolerance to physical exercises and recovery of electrical myocardial stability. Histological study of lungs, heart, kidneys, liver and adrenal glands demonstrated pronounced prophylactic effect of vinboron. Prophylactic injection of pentoxifylline improved the blood flow and corrected adaptation processes in myocardium, kidneys and adrenal glands but caused pronounced plethora in lungs with the development of multiple hemorrhages and hemosiderosis that may result in paradoxical effect that is increased hypoxia in this organ. In comparison with pentoxifylline vinboron does not cause sclerotic changes of internal organs and the destruction of hemodynamics which were observed under the action of pentoxifylline. Vinboron caused the increasing adaptation ability of organism to chronic hypoxic hypoxia with hyperkapnia. In this ability vinboron is preferable to pentoxifylline.

Antihypoxic effect of vinboron is realized first of all to the account of normalization of bioenergetic processes and recovery of oxydative-antioxydative balance in vital organs of rats. Preliminary injection of vinboron prevents from exaustion of adenine nucleotide reserves in the brain and heart. Adenosine triphosphoric acid and kreatine-phosphate is increased in comperison with the control animals. Vinboron as well as pentoxifylline prevents from matabolic acidosis in the

heart and brain of rats. Under the influence of vinboron there was a pronounced decrease of hydroperoxides content and malonic dialdegide in the heart and brain on the background of increase of superoxide dismutase and catalase in the myocardium with the decrease of its indices in the brain.

At the same time antihypoxic effect of vinboron is due to the presence of vasodilatative effect in rats. Under the conditions in vitro the drug (10^{-4} - 10^{-8} M) causes stable dose-depended relaxation of shortened by mesaton aorta rings, vasodilatation activity of vinboron being higher in the presence of endothelium than in deendotheliolized vessels. Vasodilatation action of vinboron is shown by the increase of the reduced level of cerebral blood flow in the anesthetized rats. Injection of vinboron unlike cavinton prevented the decrease of arterial pressure on the background of acute thromboembolism. At the examination of arterio-venous difference in cat's blood it was determined that ammonia content reliably decreases with the increase of glucose level up to that of intact animals.

Key words: hypoxia, vinboron, pentoxifylline

АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ

ДЯКОВА Оксана Василівна

УДК: 615 - 084:615.015: 616.152. 21. 001. 5

ПРОФІЛАКТИЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВІНБОРОНУ ПРИ ГІПОКСИЧНИХ СТАНАХ (експериментальне дослідження)

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Київ-2005

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор **СТЕПАНЮК Георгій Іванович**, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України, завідувач кафедри фармакології.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор **СОЛОВЙОВ Анатолій Іванович,** Інститут фармакології та токсикології АМН України, головний науковий співробітник відділу експериментальної терапії.

доктор медичних наук, професор **ЛУК'ЯНЧУК Віктор Дмитрович**, Луганський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри фармакології.

Провідна установа: Одеський державний медичний університет, кафедра загальної та клінічної фармакології МОЗ України, м. Одеса.

Захист дисертації відбудеться "____" _____2005 р. о ____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при Інституті фармакології та токсикології АМН України за адресою: 03057, Київ, вул. Е. Патьє, 14.

З дисертацію можна ознайомитись в бібліотеці Інституту фармакології та токсикології АМН України за адресою: 03057, Київ, вул. Е. Патьє, 14.

Автореферат розісланий "___"_____2005р.

Вчений секретар
спеціалізованї вченої ради Д 26.550.01
кандидат біологічних наук **Данова І.В.**

Підписано до друку 26.10.2005 р. Замовл. № 345.
Формат 60х90 1/16 Ум. друк. арк. 0,9 Друк офсетний.
Наклад 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М.І. Пирогова, Пирогова, 56.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Гіпоксія (Г) – один з найбільш поширених процесів, який становить основу багатьох захворювань або супроводжує їх (Л.Д. Лукьянова, 1990; С.А. Сергееева, 1991; В.С. Лаврова, 1994; Г.Г. Жданов, 1995; В.Д. Лукьянчук, 1998; А.В. Смирнов, 1998). Особливе місце серед станів Г посідає ішемія різних органів - серця, мозку, легень та ін. (Т.Ю. Макаревич, 1997). Значну актуальність в наш час набули ішемічна хвороба серця та судинна патологія головного мозку, які стали одними з основних причин інвалідизації та смерті людини (М.Б. Маньковский, 1996; О.Ф. Возіанов, 1996; Т.Ю. Макаревич, 1997). Тому антигіпоксичні препарати займають чільне місце в системі патогенетичного лікування гіпоксичних та ішемічних станів.

Незалежно від виду Г в основі характерних для неї розладів лежать енергодефіцит та активація вільнорадикальних процесів (Л.Д. Лукьянова, 1991), тому логічно, що одним з ефективних шляхів захисту від нестачі кисню є застосування антигіпоксантів (Аг), які повинні, в першу чергу, забезпечити корекцію енергетичного обміну і стабілізацію клітинних та субклітинних мембран. Для профілактики та лікування гіпоксичного синдрому (ГС) використовуються як специфічні: гутимін, амтизол, емоксипін, цитохром С, пірацетам, натрію оксибутират та ін.), так і неспецифічні: барбітурати, нейролептики та вазодилататори (пентоксифілін, но-шпа), адрено – та симпатоміметики, антиоксиданти, блокатори кальцієвих каналів, інгібітори циклооксигеназ, стабілізатори мембран та ін. Аг. Незважаючи на великий арсенал Аг проблема фармакокорекції порушень, які розвиваються при ГС, ще не вирішена. Це пов'язано з незавжди достатньою ефективністю препаратів даної групи, наявністю у них побічних ефектів (у пентоксифіліну – зниження артеріального тиску, алергічні реакції, набряки; натрію оксибутирату - блювота, порушення дихання; емоксипіну – помірне підвищення артеріального тиску, збудження або сонливість, висипки на шкірі; пірацетаму – роздратованість, диспепсичні явища, головна біль, порушення сну, загострення ішемії серця), які обмежують їх використання (М.Д. Машковский, 2002). Тому пошук та розробка нових високоефективних та безпечних Аг є нагальною задачею.

В останні роки в науковій літературі все частіше наголошується про перспективність використання в клінічній практиці лікарських препаратів з політропними фармакологічними властивостями, що може забезпечити необхідний рівень функціонування органів та систем (А.А. Абдуллаев и соавт., 1994; С.Г. Бурчинський, 2001; В.И. Погорелов и соавт., 2001; А.М. Демченко, 2001; В.Ф. Шенгур, 2001; О.І. Волошин та співавт., 2003). Цінність таких лікарських засобів полягає, в першу чергу, в тому, що вони дають змогу

усунути поліпрагмазію, при якій не виключена взаємодія ліків з виникненням ускладень (И.С. Чекман, 1980; Я.Я. Балткайс, В.А. Фатеев, 1991).

До числа препаратів з політропними властивостями відноситься вітчизняний спазмолітик вінборон (ресинтезований на НВЦ „Борщагівський ХФЗ" фенікаберан) (Л.В. Беспалько і співавт., 1998). Вінборону притаманний широкий спектр фармакологічних властивостей – знеболююча, антиоксидантна, протиішемічна, антиагрегантна, протизапальна, протиаритмічна, імуномодулююча, здатність стимулювати мікроциркуляторні та репаративні процеси (Н.Г. Степанюк, 2000; Г.І. Степанюк і співавт., 2002, С.В. Сергеєв, 2002, О.С. Пашинська, 2004), що свідчить про перспективність його вивчення в якості Аг.

Протигіпоксичні властивості вінборону раніше не досліджувались, що і стало підставою для проведення цієї роботи.

Зв'язок роботи з науковиим програмами, планами, темами. Робота виконана в рамках Держбюджетної наукової роботи Вінницького національного медуніверситету ім. М.І. Пирогова (ВНМУ) по темі: «Експериментальне обгрунтування доцільності застосування бензофурокаїну, вінборону та тіотріазоліну як лікарських засобів з політропними фармакологічними властивостями при гострих та хронічних запальних процесах» (№ Державної реєстрації 0199U004043).

Мета і задачі дослідження. Мета - експериментально обгрунтувати доцільність застосування вінборону для профілактики порушень, які виникають при Г та дослідити механізми його дії.

Для досягнення мети були поставлені наступні **задачі**:

2. Встановити антигіпоксичні властивості вінборону на моделях гострих ГС (гострої гіпобаричної Г, Г замкнутого простору, циркуляторної Г та гемічної Г) та порівняти їх з Аг різних фармакологічних груп (ноотропи, неінгаляційні наркозні засоби, засоби, що покращують мозковий кровообіг, Аг).

2. Розробити оптимальний дозовий режим застосування вінборону в умовах Г замкнутого простору з екстраполяцією на людину.

3. Дослідити фармакокінетику вінборону при пероральному введенні в організм на моделі експериментальної гострої гіпоксичної гіпоксії (ГГГ).

4. Встановити фармакопрофілактичну ефективність вінборону в умовах хронічної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією (ХГГ з гіперкапнією).

5. Дослідити механізми протигіпоксичної дії вінборону.

6. Обгрунтувати доцільність застосування вінборону в якості засобу для профілактики порушень гіпоксичного генезу.

Об'єкт дослідження – патологічні зміни, що виникають в організмі при ГС.

Предмет дослідження – антигіпоксичні властивості вінборону.

Методи дослідження. В роботі використані фармакологічні, патофізіологічні, фармакокінетичні, біохімічні, морфологічні, математичні та статистичні методи.

Наукова новизна отриманих результатів.

У роботі вперше теоретично обгрунтована та експериментально доведена на різних моделях Г доцільність застосування вінборону, як лікарського засобу з політропними фармакологічними властивостями, для профілактики порушень, що виникають при ГС. Встановлено, що за величиною антигіпоксичної активності ($ЕД_{50}$) вінборон майже в 17 разів перевершує пентоксифілін, співставляючись з емоксипіном на моделі Г замкнутого простору. Вперше доведено, що профілактична дія вінборону в умовах ХГГ з гіперкапнією проявляється зростанням фізичної витривалості, відновленням електричної стабільності міокарду, попередженням дистрофічних та проліферативних процесів у внутрішніх органах дослідних тварин. За фармакопрофілактичною ефективністю вінборон перевершує пентоксифілін. Механізм протигіпоксичної дії вінборону пов'язаний з вазодилататорним ефектом, спроможністю стимулювати мозковий кровотік та метаболічні процеси в життєво важливих органах (ЖВО), гальмівним впливом на процеси перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) на тлі зростання активності антиоксидантної системи (АОС).

Практичне значення одержаних результатів.

Експериментально обгрунтована доцільність застосування вінборону як лікарського засобу з політропними фармакологічними ефектами для профілактики порушень гіпоксичного генезу. Розроблено оптимальний режим дозування вінборону з екстраполяцією на людину в умовах гіпоксичних станів. Результати проведеного дослідження впроваджено в педагогічний процес кафедри фармакології та патологічної фізіології ВНМУ, кафедр фармакології Луганського, Тернопільського, Запорізького, Буковинського державних медичних університетів та Львівського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно проведено інформаційний пошук, аналіз наукової літератури за темою дисертації, визначені задачі і мета дослідження, опрацьовані моделі, згідно з якими особисто виконано експериментальні дослідження, здійснено статистичну обробку отриманих даних та оформлення їх у вигляді таблиць і рисунків, проаналізовано результати досліджень, сформульовано основні положення та висновки роботи. Гістологічні дослідження автором проведені при консультативній допомозі доцента кафедри патологічної анатомії ВНМУ В.Т.

Рауцкієне та завідувача кафедри гістології ВНМУ проф. М.С. Пушкаря; біохімічні дослідження виконані на базі лабораторії кафедри загальної та біологічної хімії ВНМУ (зав. проф. О.О. Пентюк).

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи доповідались на науково - практичній конференції «Медицина будущего» (Краснодар – Сочи, 2002); міжнародній науково-практичній конференції «Клінічна фармація: 10 років в Україні» (Харків, 2003), міжнародному симпозіумі «Актуальні питання сучасної медичної допомоги населенню» (Чернівці, 2003); науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (Вінниця, 2004); XI Російському національному конгресі «Человек и лекарство» (Москва, 2004); X-ій науковій університетській (XXXX-ій вузівській) науково-практичній конференції молодих учених та фахівців (Вінниця, 2004), IV Українській міжнародній науково - практичній конференції з клінічної фармакології (Вінниця, 2004), на розширеному засіданні наукових товариств фармакологів, патофізіологів, біохіміків та морфологів ВНМУ ім. М.І. Пирогова 23.11.2004.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 12 наукових робіт, з них 6 статей в фахових журналах ВАК України та 6 тез у збірниках праць з'їздів і конференцій.

Структура та об'єм дисертації. Матеріали дисертації викладені на 140 сторінках рукопису і складаються із вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали і методи дослідження», п'ятьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел. Покажчик літератури містить 379 вітчизняних та 77 зарубіжних джерел. Робота ілюстрована 15 таблицями та 28 рисунками, з яких 23 мікрофотографії.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали, моделі і методи дослідження. Експерименти проведено на 692 нелінійних білих щурах обох статей масою 130 – 400 г, 23 кішках обох статей масою 3,5 - 5 кг та 70 білих мишах масою 17-32 г. Всі тварини утримувались у віварії ВНМУ на стандартному водно-харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі. Тварини отримували стандартне харчування у вигляді збалансованого гранульованого корму за встановленими нормами. Дослідження проводили в лабораторії кафедри фармакології ВНМУ ім. М.І. Пирогова, сертифікованої Державним фармакологічним центром МОЗ України (посвідчення №51 від 30. 05. 2002) з врахуванням методичних рекомендацій

ДФЦ МОЗ України “Доклінічні дослідження лікарських засобів” (О.В. Стефанов, 2001).

В дослідах використовували ін’єкційну лікарську форму вінборону у вигляді ліофілізованого порошку по 0,01 в ампулах (НВЦ “Борщагівський ХФЗ”). Протигіпоксичну дію вінборону порівнювали з відомими Аг: розчини натрію оксибутирату 20% (Ризький ФЗ, Латвія), емоксипіну 1% (“Белмедпрепарат”, Росія), пентоксифіліну 2% (Дарниця, Україна), пірацетаму 20% (Дарниця, Україна), кавінтону (Gedeon Richter, Угорщина).

Г замкнутого простору моделювали шляхом розміщення щурів у ізольовані гермооб'єми (V=0,001 $м^3$). Спостереження за тваринами проводили до моменту їхньої загибелі з наступним розрахуванням коефіцієнту захисту - Кз (В.Д. Лук'янчук і співавт., 2002). Антигіпоксичну активність вінборону, емоксипіну та пентоксифіліну оцінювали за показником $ЕД_{50}$ (середньоефективна доза препарату, яка сприяла збільшенню тривалості життя експериментальних тварин на 50% по відношенню до контрольної групи), яку розраховували графічно за методом Литчфілда-Уілкоксона (М.Л. Беленький, 1963). Досліджувані препарати вводили одноразово внутрішньоочеревинно (в/о) за 1 год до початку моделювання Г в дозах: вінборон - 2,3 - 18,5% від $ЛД_{50}$; емоксипін – 2,5 - 20 мг/кг, пентоксифілін – 50,0 - 200,0 мг/кг маси тіла щурів, в терапевтично ефективних дозах, запозичених з літератури (В.В. Юшкова, 1999; В.Е. Погорелый, 1999; І.П. Бєлоусова, 2000; О.А. Коробков, 2002). Ефективність препаратів оцінювали за показником середньої тривалості життя, а також за перебігом клінічної картини.

Циркуляторну Г (ішемію) мозку відтворювали на наркотизованих (тіопентал – натрій 70 мг/кг в/о) щурах шляхом оклюзії обох загальних сонних артерій. Вінборон, натрію оксибутират, пірацетам, емоксипін, пентоксифілін вводили одноразово за 1 год в/о до створення гострого порушення мозкового кровооообігу (ГПМК). Фармакопрофілактичну ефективність досліджуваних препаратів на даній моделі Г оцінювали за динамікою показника летальності щурів, а також клінічними симптомами перебігу ГПМК (В.Д. Лук'янчук та співавт., 2002). Циркуляторну Г (ішемію) мозку моделювали шляхом підведення лігатури під судини під каліпсоловим наркозом (50 мг/кг в/о) за 24 год до моделювання патологічного стану. Препарати вводили одноразово в/о за 60 хв до моделювання ГПМК: вінборон в дозі 6,6 мг/кг (доза, що становить $ЕД_{50}$ при Г замкнутого простору), для референс – препаратів взято оптимальні терапевтично ефективні дози, запозичені з літератури: емоксипін 10 мг/кг, пірацетам 250 мг/кг, пентоксифілін 110 мг/кг, натрію оксибутират 300 та 500 мг/кг (Н.А. Сысолятина, 1998; В.В. Юшкова, 1999; І.П. Бєлоусова, 2000; В.Д. Лук'янчук та співавт., 2002; О.Ю. Бибик, 2002; О.В. Дякова, 2003).

Ефективність досліджуваних лікарських засобів оцінювали за динамікою показника летальності та клінічною картиною перебігу Г.

Стан метаболічних процесів в мозку та серці вивчали на моделі ГГГ у щурів, яку створювали шляхом «підйому» тварин в барокамері на висоту 8000 м над рівнем моря зі швидкістю 50 м/с, експозиція тривала 30 хв. Вінборон (6,6 мг/кг в/ш) та пентоксифілін (116 мг/кг в/ш) вводили з профілактичною метою за 60 хв до початку моделювання ГС в дозах, що дорівнюють їх $ЕД_{50}$ (І.П. Белоусова, 2000; О.В. Дякова, 2003).

Гостру гіпобаричну Г у мишей відтворювали шляхом «підйому» тварин на висоту 8000 м за допомогою спеціальної установки. Піддослідних тварин витримували на даній висоті до загибелі (В.Г. Личко, 2000). Вінборон в дозі 4 - 32 мг/кг; пентоксифілін 50 - 200 мг/кг; пірацетам 100 - 750 мг/кг; емоксипін 5 - 20 мг/кг та натрію оксибутират 50 - 150 мг/кг вводили одноразово в/о за 1 год до моделювання патології (І.П. Бєлоусова, 2000; Р.А. Ахундов, 2001; О.А. Коробков, 2002; О.Ю. Бибик, 2002; Т.А. Скочко-Волкова, 2002).

Гостру гемічну Г моделювали шляхом введення натрію нітриту підшкірно в дозі 120 мг/кг (Н.Ф. Иваницкая, 1975). Вінборон вводили в дозі 6,6 мг/кг та пентоксифілін в дозі 110 мг/кг в/о за 60 хв до введення метгемоглобіноутворювача (І.П. Белоусова, 2000; О.В. Дякова, 2003). Ефективність препаратів оцінювали за зміною часу життя тварин (В.Д. Лук'янчук та співавт., 2002).

ХГГ з гіперкапнією моделювали шляхом «підйому» тварин в барокамері ($V = 0,324$ $м^3$) на висоту 8000 м над рівнем моря зі швидкістю 50 м/с. Експозиція тривала 5 год щоденно на протязі 5 тижнів (Ф.З. Меерсон, 1981). Рівень двоокису вуглецю (CO_2) визначали фотометричним методом. Концентрацію CO_2 (об%) знаходили за калібрувальним графіком (М.Д. Манита, Р.М. Салихджанова, 1980). Вінборон та пентоксифілін вводили в дозах, що дорівнюють їх $ЕД_{50}$, - 6,6 та 100 мг/кг відповідно, з профілактичною метою щоденно внутрішньошлунково (в/ш) за 60 хв до «підйому» тварин в барокамері (І.П. Бєлоусова., 2000; О.В. Дякова, 2003). Електричну стабільність міокарду щурів в умовах ХГГ з гіперкапнією оцінювали за допомогою електростимулятора ЕС – 50-1, який дозволяє наносити “пачку” із 99 тестуючих імпульсів необхідної тривалості в найбільш вразливий період серцевого циклу, який реєстрували на електрокардіографі “Малиш” в другому стандартному відведенні (В.А. Люсов, Н.И. Савчук, 1991; K. Torfgard, J. Althner, 1994). Рівень фізичної виносливості оцінювали за допомогою плавальної проби: враховували тривалість плавання (в с) кожної тварини до повного стомлення (занурювання) у воді з температурою 37^0С з вантажем, що складав 15% маси тіла (Б.Г. Исаев, 1988; А.В. Цибанев, 1991). Дослідження морфологічної структури серця,

легенів, печінки, нирок та наднирників в умовах ХГГ з гіперкапнією проводили після забарвлення гістологічних зрізів гематоксилін-еозином з використанням світлової мікроскопії (Е. Пирс, 1962).

При розробці дозового режиму в умовах гострої Г вінборон вводили в/о з профілактичною метою за 1 та за 2 год до початку моделювання ГС в дозах: 2,0; 4,0; 8,0; 16,0 та 32,0 мг/кг (2,3; 4,6; 9,3; 18,5 та 37% від $ЛД_{50}$). Екстраполяцію доз вінборону на людину проводили за константами біологічної активності (Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев, 1979).

Фармакокінетику вінборону вивчали на інтактних щурах та щурах з моделлю ГГГ. Вінборон вводили одноразово в/ш натще за 15 хв до моделювання Г в дозі 100 мг/кг (близько 12% від $ЛД_{50}$) у вигляді 2% водного розчину. Кров для досліджень брали в обох групах (одночасно у 3-4 тварин) через 15, 30, 60, 120, 240, 360 та 480 хв після введення препарату. Вміст вінборону в плазмі крові (мкг/мл) визначали за методом Р.А. Мусіна та співавт. (2002) з використанням калібрувального графіка.

Вміст аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ), лактату та пірувату в гомогенатах мозку та серця щурів в умовах ГГГ проводили за загальноприйнятими методиками (М.И. Прохорова, 1982). Вміст креатинфосфату (КФ) визначали за методом P. Ergliton et al. (1954) на спектрофотометрі при довжині хвилі 525 нм. Концентрацію глікогену та глюкози визначали методом, описаним В.В. Меньшиковим (1987). Стан ПОЛ оцінювали за вмістом гідроперекисів ліпідів (ГП) (А.А. Романів, І.Д. Стальна, 1988) та малонового диальдегіду (МДА) (І.Д. Стальна, Г.Г. Гаришвілі, 1977), стан АОС - за активністю каталази (М.А. Королюк и соавт., 1988) та супероксиддисмутази (СОД) (В.А. Костюк з співавт., 1990).

ГПМК моделювали у щурів та кішок під нембуталовим наркозом (40 мг/кг в/о) шляхом введення у внутрішню сонну артерію 0,2% завісі лікоподію в крохмальному клейстері (А. Фохт, 1920). Рівень мозкового кровотоку у щурів визначали за допомогою флоуметра Transonic® Animal Research Flowmeters T 106 Series. Периваскулярний датчик, надягнутий на внутрішню сонну артерію, фіксував об'ємну швидкість кровотоку (мл/хв). Результати моніторингу були зафіксовані на жорсткому диску комп'ютера у вигляді графічних даних. Паралельно у кішок з ГПМК визначали динаміку артеріального тиску (АТ) в стегновій артерії (за допомогою датчика Transpac® Pressure Transducer), а також проводили забір крові для визначення артеріо - венозної різниці (АВР) вмісту аміаку та глюкози. Концентрацію глюкози в крові визначали стандартним ортотолуїдиновим методом, аміаку - методом ізотермічної перегонки з наступною реакцією його з реактивом Несслера (В.В. Меньшиков, 1987)

Вивчення вазоділататорної активності вінборону in vitro проведено на кільцевих фрагментах аорти, ізольованих у щурів - самців лінії Вістар. Силу скоротливих реакцій кілець аорти реєстрували в ізометричному режимі. В окремій серії дослідів ділататорні реакції скорочення гладеньких м'язів аорти досліджували на деендотелізованих фрагментах судин, що підтверджувалося повною відсутністю ділататорних відповідей на АХ (В.П. Реутов и соавт., 1997, S.W. Ballinger et al., 2000).

Усі використані одиниці виміру і параметри наведені відповідно до МСО (Г. Ліперт, 1980). Комп'ютерну обробку числового матеріалу проводили із використанням програмного пакета Origin 7.5 (OriginLab Co., USA), EXEL 5.0. При нульовому та 100% значенні показників використовували метод Р.Б. Стрелкова (1998). Зміни вважали статистично вірогідними при $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Дослідження протигіпоксичних властивостей вінборону на різних моделях гіпоксії.

На різних за генезом моделях Г встановлено, що превентивне в/о введення щурам та мишам вінборону, подібно до референс - препаратів, справляло виразну антигіпоксичну дію, що проявлялось подовженням тривалості життя, зниженням показника летальності та покращанням клінічної картини.

На моделі Г замкнутого простору захисна дія вінборону, як і емоксипіну та пентоксифіліну, була дозозалежною (табл.1).

Таблиця 1.

Протигіпоксична ефективність вінборону в порівнянні з іншими ангигіпоксантами (M ± m, n = 7).

Умови досліду	Доза, мг/кг	Середня тривалість життя, хв	Ефектив-ність профілак-тики,%	Кз	ЕД50, мг/кг
Гіпоксія (контроль)	-	41,8 ± 1,21	-	-	-
Вінборон	2,0	49,3 ± 0,96*	+17,9	1,18 ± 1,05	

+ гіпоксія	4,0	56,0 ± 1,42*	+34,0	1,34 ± 1,27	6,6 (2,64÷16,5)
	8,0	66,04 ± 1,84*	+58,0▼	1,58 ± 1,5	
	16,0	56,85 ± 1,51*	+36,0	1,36 ±1,31	
Емоксипін + гіпоксія	2,5	47,65 ± 0,65*	+14,0	1,14 ± 0,93	10,0 (4,25÷23,5)
	5,0	52,67 ± 0,84*	+26,0	1,26 ± 1,0	
	10,0	62,85 ± 0,99*	+51,0▼	1,50 ± 1,06	
	20,0	59,36 ± 1,00*	+42,0	1,42 ± 1,07	
Пентокси-філін + гіпоксія	50,0	52,0 ± 1,03*	+24,4	1,24 ± 1,08	110,0 (73,3÷165)
	100,0	61,4 ± 1,10*	+46,0	1,47 ± 1,11	
	150,0	57,6 ± 1,57*	+37,0	1,38 ± 1,35	
	200	46,39 ± 0,87*	+11,0	1,11 ± 1,01	

Примітка. * - $p \leq 0,05$ відносно контролю.

▼ – $P<0,025$ відносно контролю (розраховано за допомогою точного методу Фішера для чотирьохпільної таблиці)

Найбільшу захисну дію вінборон проявив в дозі 8 мг/кг: середня тривалість життя тварин збільшилась на 58% відносно контролю. Кз становив 1,58 проти 1,5 та 1,47 відповідно для емоксипіну та пентоксифіліну, взятих в оптимальних антигіпоксичних дозах, тобто за величиною Кз вінборон практично співставлявся з референс-препаратами. При цьому за ступенем антигіпоксичної активності (за показником $ЕД_{50}$) вінборон майже в 17 разів переважав пентоксифілін, співставляючись з емоксипіном.

Протигіпоксична дія вінборону чітко проявилась і на моделі циркуляторної Г (ішемії) мозку у наркотизованих щурів (табл. 2).

При цьому за величиною захисної дії в критичний період експерименту (в перші 6 год експерименту) вінборон переважав емоксипін, співставляючись з пірацетамом, натрію оксибутиратом та пентоксифіліном. На 36 год дослідження, коли в контролі показник летальності становив 100%, за ступенем профілактичної дії вінборон практично не відрізнявся від препаратів порівняння.

Таблиця 2.

Вплив вінборону, натрію оксибутирату, емоксипіну, пентоксифіліну та пірацетаму на летальність (%) наркотизованих щурів в умовах циркуляторної гіпоксії мозку (n=10)

Групи тварин	Препарат	Доза, Мг/кг	Строки досліджень, год				
			1	6	12	24	36
1	Контроль	-	40	70	80	80	100
2	Вінборон	6,6	0*[1]	0[*1,3]	10[*1,3,5]	40[*1]	70
3	Емоксипін	10	0[*1]	40[*2]	50[*2]	60	80
4	Пірацетам	250	10	10[*1]	20[*1]	40[*1]	70
5	Пентоксифілін	110	10	30	60[*2]	70	80
6	Натрію оксибутират	500	10	20[*1]	30[*1]	60	70

Примітка. * - статистично вірогідний результат при $p \leq 0,05$. Цифра біля * означає номер групи, з якою проводилось порівняння.

Високий ступінь захисної дії вінборону знайшов підтвердження на моделі циркуляторної Г у ненаркотизованих тварин: попереднє введення вінборону (6,6 мг/кг в/о) повністю запобігало летальності тварин в критичний період експерименту (1-ша год), в той час як в контролі загинуло 60% щурів. При цьому за ефективністю вінборон практично співставлявся з пірацетамом, пентоксифіліном, емоксипіном та натрію оксибутиратом в зазначений період досліду: летальність становила відповідно 10, 20, 10 та 20% ($p \leq 0,05$).

Дозозалежна протигіпоксична дія вінборону чітко проявилась і на моделі гострої гіпобаричної Г у мишей (табл. 3). Найбільшу активність досліджуваного препарату виявлено в дозі 16 мг/кг: Кз становив 2,04. В оптимальній протигіпоксичній дозі вінборон практично співставлявся з емоксипіном, пентоксифіліном, натрію оксибутиратом та пірацетамом за величиною Кз, перевершуючи референс-препарати в активності (по $ЕД_{50}$) відповідно в 1,3; 10,3; 18,6 та 40 разів. Ці дані свідчать про більш високу антигіпоксичну активність досліджуваного лікарського засобу.

На моделі гострої гемічної Г фармакопрофілактична дія вінборону, як і пентоксифіліну, не проявилась.

Таблиця 3.

Протигіпоксична дія вінборону на моделі гострої гіпобаричної гіпоксії (M±m, n=10).

Умови досліду	Доза, мг/кг	Середня тривалість життя, хв	Ефектив-ність профілак-тики, %	Кз	$ЕД_{50}$, мг/кг
Гіпоксія (контроль)	-	2,53 ± 0,41	-	-	-
Вінборон + гіпоксія	4	3,6 ± 0,59	+42	1,42 ± 0,49	5,2 (2,88 ÷ 9,36)
	8	4,21 ± 0,48*	+66▼	1,66 ± 0,43	
	16	5,18 ± 0,54*	+104,7▼	2,04 ± 0,46	
	32	3,49 ± 0,50	+ 38	1,38 ± 0,44	
Пентокси-філін + гіпоксія	50	3,7 ± 0,71	+46	1,46 ± 0,56	97,0 (19,7 ÷ 236,5)
	100	4,07 ± 0,56	+61▼	1,60 ± 0,47	
	125	4,17 ± 0,81	+65▼	1,64 ± 0,62	
	150	4,70 ± 0,65*	+86▼	1,85 ± 0,52	
	200	3,80 ± 0,69	+50▼	1,5 ± 0,55	
Пірацетам + гіпоксія	100	3,18 ± 0,53	+26	1,25 ± 0,46	207,0 (34,5 ÷ 1242,0)
	250	3,99 ±0,66	+58▼	1,57 ± 0,53	
	500	5,11 ± 0,76*	+102▼	2,01 ± 0,59	
	750	4,72 ± 0,53	+86▼	1,86 ± 0,46	
Емоксипін + гіпоксія	5,0	3,76 ± 0,86	+49	1,48 ± 0,65	6,9 (3,63 ÷ 13,11)
	10,0	3,99 ± 1,06	+58▼	1,57 ± 0.77	
	20,0	4,94 ± 0,65*	+95,6▼	1,95 ± 0,52	
Натрію Оксибутират + Гіпоксія	50	3,74 ± 0,72	+48	1,47 ± 0,56	55,0 (12,8÷ 236,5)
	100	4,85 ± 1,06	+92▼	1,91±0,77	
	150	4,55 ± 0,91	+80▼	1,79±0,68	

Примітка. * $p \leq 0,05$ відносно контролю.

▼ – $P<0,025$ відносно контролю (розраховано за допомогою точного методу Фішера для чотирьохпільної таблиці)

Розробка дозового режиму використання вінборону в умовах впливу на організм гіпоксії замкнутого простору. При розробці оптимального режиму дозування вінборону було встановлено, що з усіх випробуваних доз найбільш ефективною виявилася доза 8 мг/кг при одноразовому в/о введенні за 1 год до відтворення ГС: мало місце подовження середньої тривалості життя експериментальних тварин на 58% і покращання перебігу клінічної картини ГС. При цьому, виходячи з функції залежності ефективності препарату від його дози, була обчислена середня ефективна доза препарату ($ЕД_{50}$), яка склала 6,6 мг/кг. Ізоефективна доза вінборону, розрахована за константами біологічної активності (Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев, 1979), для людини склала 1,26 мг/кг.

Дослідження фармакокінетики вінборону при гострій гіпоксичній гіпоксії.

Фармакокінетичні параметри вінборону (100 мг/кг в/ш) у щурів в умовах ГГГ істотно змінюються в порівнянні з інтактними тваринами: на 34% зростає період розподілу препарату в камерах організму ($t_{1/2\alpha}$), в 2,6 рази збільшується об'єм розподілу препарату в центральній камері (V_d). Разом з цим в зазначених умовах спостерігається значне сповільнення виведення вінборону з організму, на що вказує зменшення у 7 разів показника константи елімінації ($К_{el}$), зменшення в 2,6 рази кліренсу (Cl_t), збільшення в 2,6 рази площі під фармакокінетичною кривою (AUC, мкг.хв.мл$^{-1}$) та збільшення в 2,7 рази часу утримання вінборону в плазмі крові щурів (MRT). Отримані дані вказують на те, що гостра Г викликає затримку препарату в організмі та гальмує його елімінацію.

Оцінка фармакопрофілактичної ефективності вінборону в умовах хронічної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією.

Щоденне введення вінборону (6,6 мг/кг в/ш) щурам протягом 35 днів в умовах моделювання ХГГ з гіперкапнією протидіяло порушенню електричної стабільності міокарду. На це вказувало підвищення рівня порогу фібриляції шлуночків серця (ПФШС) на 36 добу майже до рівня інтактних тварин. Ефективність пентоксифіліну (100 мг/кг в/ш) при цьому була значно меншою: ПФШС в зазначений термін виріс лише на 9,4% ($p > 0,05$). В заданих умовах вінборон ефективніше за пентоксифілін посилював фізичну витривалість тварин: вірогідно зростала тривалість плавальної проби відповідно на 107,9% та 58% відносно контролю. Сприятливий вплив вінборону позначився і на мікроструктурі внутрішніх органів щурів. В зазначених умовах вінборон, на відміну від пентоксифіліну, повністю блокував розвиток функціонального виснаження та профілактував виникнення дистрофічних та проліферативних

процесів у легенях, міокарді та наднирниках, покращував в них процеси регенерації.

Вивчення механізмів протигіпоксичної дії вінборону. Для визначення шляхів реалізації антигіпоксичної дії вінборону досліджено його вплив на метаболічні процеси в головному мозку та серці щурів з ГГГ. Встановлено, що профілактичне одноразове введення вінборону (6,6 мг/кг в/ш) щурам з ГГГ, подібно до пентоксифіліну (116 мг/кг в/ш), запобігало виснаженню резервів вмісту макроергів в ЖВО тварин. Рівень АТФ вірогідно зростав відносно контрольних тварин на 31,7% та 43,8%, КФ – на 78,8% та 81,2% відповідно. Превентивне введення вінборону, так само як і пентоксифіліну, сприяло зростанню рівня глюкози в мозку щурів відповідно на 36,7% та 20% ($p \leq 0,05$), практично не впливаючи на її вміст в міокарді (рис.1). Водночас, в умовах ГГГ, вінборон сприяв зростанню вмісту глікогену в міокарді, практично не змінюючи його рівень в мозку, в той час як пентоксифілін викликав вірогідне відновлення вмісту глікогену в ЖВО щурів з ГГГ.

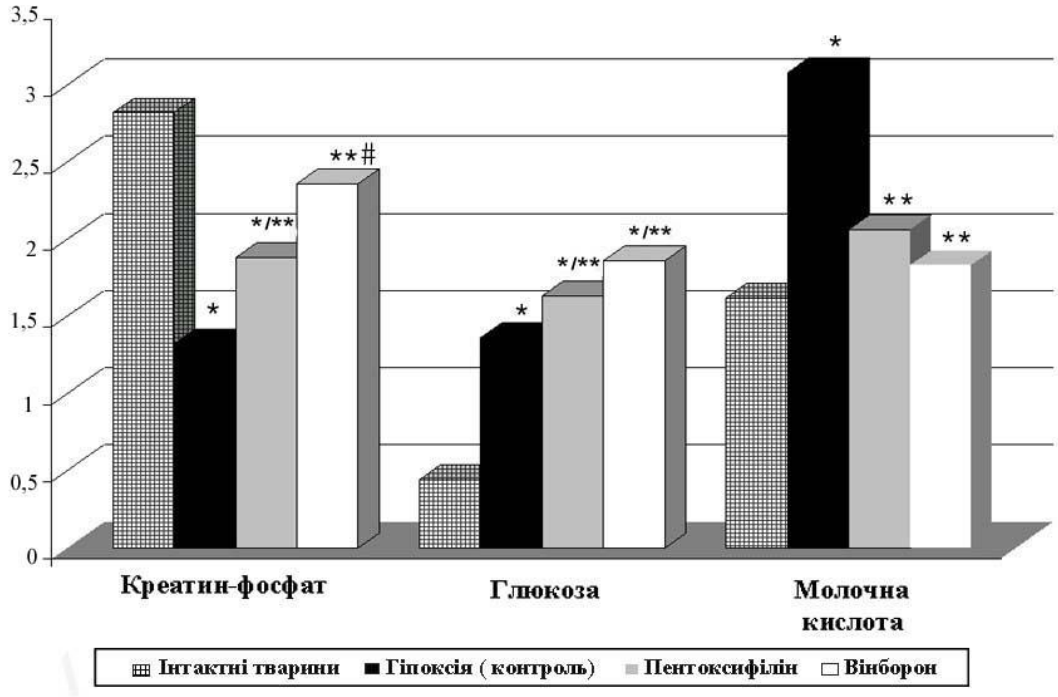

Рис.1. Динаміка КФ, глюкози та молочної кислоти (мкмоль/г) в мозку щурів в умовах ГГГ при профілактичному введенні вінборону та пентоксифіліну.

Примітки: * - $p \leq 0,05$ відносно інтактних щурів; ** - $p \leq 0,05$ відносно контролю; #- $p \leq 0,05$ відносно пентоксифіліну.

Профілактичне введення вінборону, як і пентоксифіліну, профілактувало виникнення цитоплазматичного ацидозу в клітинах головного мозку та серця, про що свідчило зниження рівня молочної кислоти на 40,5% та 41,81% (рис.1) та показника лактат/піруват на 45,02% та 63% відповідно.

Вінборон, подібно до пентоксифіліну, протидіяв зростанню в ЖВО вмісту ГП та МДА на тлі зростання активності ферментів природньої АОС (рис.2).

Рис. 2. Динаміка ГП, МДА, СОД та каталази в мозку щурів в умовах ГГГ при профілактичному введенні вінборону та пентоксифіліну.

Примітки: * - $p \leq 0,05$ відносно інтактних тварин; # - $p \leq 0,05$ відносно контролю.

Профілактичне введення вінборону сприяло зниженню в мозку ГП та МДА на 15,6% та 29,6% відповідно. При цьому спостерігалась активізація СОД в мозку на 33,3% при зниженні каталази в мозку на 32,4% відповідно (рис.2). Аналогічна динаміка зазначених показників оксидантно-антиоксидантної рівноваги на фоні дії вінборону спостерігається і в серцевому м'язі. При цьому за спроможністю відновлювати стан АОС вінборон співставляється з референс-препаратом.

Внутрішньовенне введення кішкам вінборону (3 мг/кг), подібно до кавінтону (5 мг/кг в/в), вірогідно профілактувало зміни кровообігу, редукованого в умовах тромбоемболії: на 20 хв експерименту рівень мозкового кровотоку знизився відносно початкової величини відповідно на 41,8%, 29,5% проти 73,5% у нелікованих тварин. Введення вінборону, на відміну від кавінтону, гальмувало зниження АТ на тлі ГПМК. Здатність препаратів стимулювати об'ємну швидкість мозкового кровотоку супроводжувалось поліпшенням метаболізму в головному мозку, на що вказувала позитивна динаміка АВР за аміаком та глюкозою в крові у кішок з експериментальною тромбоемболією. Таку дію вінборону, як і референс-препарату, можна розцінити як наявність судиннорозширюючого ефекту, що знайшло підтвердження в дослідах in vitro: введення вінборону (10^{-4} - 10^{-8} М) в

омиваючий розчин Кребса викликало стійке та дозозалежне розслаблення скорочених мезатоном кілець аорти, яке тривало зберігалося і після відміни препарату. На кільцях аорти з інтактним ендотелієм спостерігалось повільне та поступове відновлення сили м'язевого скорочення. Розслаблення деендотелізованих фрагментів мало незворотній характер в інтервалі більше 2 год після відміни препарату.

Узагальнюючи результати проведеного дослідження, можна стверджувати, що вінборон, подібно до пентоксифіліну, справляє виразну фармакопрофілактичну дію на тварин на різних моделях ГС. Фармакопрофілактична ефективність вінборону, як і пентоксифіліну, при гострій Г реалізується за рахунок усунення енергодефіциту, спроможності попереджати активацію ПОЛ та стимулювати активність АОС. Важливу роль в антигіпоксичній дії препарату відіграє його стимулюючий вплив на мікрогемоциркуляцію, за рахунок антиагрегантного ефекту та зниження потреби тканин в кисні (Г.И. Степанюк и соавт., 2000). Вінборону притаманна вазодилататорна активність, яка за тривалістю та амплітудою довше зберігається на інтактних судинах.

ВИСНОВКИ

В дисертації наведено нове вирішення наукової задачі щодо фармакопрофілактики порушень, які виникають при ГС, шляхом використання вінборону.

1. Профілактичне одноразове введення вінборону білим мишам та щурам в оптимальних дозах (8 та 16 мг/кг в/о) на моделях Г замкнутого простору та гострої гіпобаричної Г підвищувало тривалість життя тварин на 58 та 104% відповідно ($p \leq 0,5$). В умовах циркуляторної Г у наркотизованих і ненаркотизованих щурів вінборон (6,6 мг/кг в/о) повністю запобігав летальності тварин в критичний період експерименту (загибель більшої половини тварин відповідно на 6 та 1 год досліду). За показником протигіпоксичної активності ($ЕД_{50}$) на моделі Г замкнутого простору вінборон майже в 17 разів перевершує пентоксифілін, співставляючись з емоксипіном: $ЕД_{50}$ відповідно становить 6,6; 110 та 10 мг/кг в/о.

2. Фармакокінетичні параметри вінборону (100 мг/кг в/ш) у щурів з ГГГ вірогідно змінюються відносно інтактних тварин: на 34% зростає період розподілу препарату в камерах організму, в 2,6 рази збільшується об'єм розподілу препарату в центральній камері, сповільнюється виведення з організму, на що вказує зменшення у 7 разів показника константи елімінації,

зменшення в 2,6 рази кліренсу, збільшення площі під фармакокінетичною кривою (у 2,6 рази) та часу утримання вінборону (в 2,7 рази) в плазмі крові.

3. При ХГГ з гіперкапнією введення вінборону (6,6 мг/кг в/ш протягом 35 днів), так само як і пентоксифіліну (100 мг/кг в/ш), вірогідно підвищує фізичну витривалість щурів на 107,9% та 58% відповідно. При цьому вінборон ліпше, ніж пентоксифілін, відновлює електричну стабільність міокарду, блокує розвиток функціонального виснаження та профілактує виникнення дистрофічних та проліферативних процесів у серці, легенях, печінці, нирках та наднирниках тварин. За рівнем фармакопрофілактичної ефективності вінборон перевершує референс-препарат.

4. Протигіпоксична дія вінборону обумовлена вазодилататорним ефектом: в умовах in vitro препарат (10^{-4}- 10^{-8} М) викликає стійке дозозалежне розслаблення скорочених мезатоном кілець аорти. При цьому вазодилататорна активність вінборону більш висока в присутності ендотелію, ніж на деендотелізованих судинах. Вазодилататорна дія вінборону проявляється зростанням на 32% ($p < 0,05$) рівня редукованого (тромбоемболія) мозкового кровотоку у наркотизованих щурів.

5. Антигіпоксична дія вінборону (6,6 мг/кг в/ш), як і пентоксифіліну (116 мг/кг в/ш), обумовлена спроможністю препарату профілактувати порушення метаболічних процесів в ЖВО. Превентивне введення вінборону щурам з ГГГ запобігає виснаженню резервів макроергів в мозку та серці: рівень АТФ зростав відносно контрольних тварин на 31,7% та 43,8% відповідно, КФ – на 78,8% та 81,2% ($p \leq 0,05$) відповідно. При цьому вінборон, подібно до пентоксифіліну, протидіяв розвитку метаболічного ацидозу в ЖВО.

6. Фармакопрофілактична дія вінборону, як і пентоксифіліну, пов′язана з антиоксидантним ефектом. Під впливом вінборону має місце вірогідне зниження в серці та мозку вмісту ГП відповідно на 14,2% та 15,6% ($p \leq 0,05$), МДА - відповідно на 31,5% та 29,6% ($p \leq 0,05$) на фоні зростання активності СОД на 35,7% та 33% відповідно ($p \leq 0,05$) та каталази в міокарді на 14,8% при зниженні її показника в мозку на 32,4% ($p \leq 0,05$). При цьому за величиною антигіпоксичного ефекту вінборон не поступався пентоксифіліну.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Волощук Н.І., Сергеєв С.В., Шаламай А.С. Терапевтична ефективність вінборону при гострому порушенні мозкового кровообігу в експерименті // Ліки.- 2002.- №5-6.- С. 59-62 (Дисертантом особисто проведено експериментальні дослідження, підготовлено матеріал до друку).

2. Дякова О.В. Порівняльна оцінка впливу вінборону та пентоксифіліну на метаболізм головного мозку та серця в умовах гострої гіпоксичної гіпоксії // Вісник Вінницького національного медичного університету.- 2003.- Т.1, №1.- С. 15-17.

3. Дякова О.В., Мудрицький В.Б., Степанюк Г.І., Сулим О.Г. Фармакокінетика вінборону при гострій експериментальній гіпоксії // Вісник Вінницького національного медичного університету.- 2003.- Т.2, №2.- С. 645-647 (Дисертантом особисто проведено експеримент, статистичну обробку результатів та їх оцінку, підготовлено статтю до друку).

4. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Рауцкієне В.Т. Гістоструктурні зміни внутрішніх органів щурів в умовах тренування хронічною гіпоксичною гіпоксією з гіперкапнією та їх корекція вінбороном // Вісник морфології.- 2004.- №10/1.- С. 126-129 (Дисертантом особисто проведено експеримент, інтерпритацію даних, підготовлено матеріал до друку).

5. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Коньков Д.Г., Паршиков О.В. Вивчення ендотелійзалежних механізмів вазоділататорної активності вінборону in vitro // Досягнення біології та медицини.- 2005.- №2(6).- С. 4-8. (Дисертантом особисто проведено експеримент, інтерпритацію даних, підготовлено матеріал до друку).

6. Деклараційний патент на винахід 69111 А, Україна, А61К31/135. Спосіб лікування експериментального гострого порушення мозкового кровотоку / Степанюк Г.І., Дякова О.В., Волощук Н.І., Сергеєв С.В. № 20031211052; Заявл. 5.12.2003 Опубл. 16.08.2004. Бюл.№8 (Дисертантом самостійно здійснено патентний пошук, розроблено схему експерименту, проведено експериментальні дослідження, підготовлено матеріал до друку)

7. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Степанюк А.Г. Фармакопрофілактика вінбороном порушень оксидантно - антиоксидантної рівноваги в мозку та серці щурів при гострій гіпоксичній гіпоксії // Мат. міжнародного симпозіуму “Актуальні питання сучасної медичної допомоги населенню”.- Чернівці.- 2003.- С. 103-106.

8. Дякова О.В., Иванова Н.И. Влияние винборона и трентала на метаболизм головного мозга и сердца крыс при острой гипоксической гипоксии // Мат. научно-практической конференции «Медицина будущего».- Краснодар - Сочи.- 2002.- С.60.

9. Дякова О.В., Мудрицький В.Б., Сулим О.Г. Фармакокінетика вінборону при експериментальній гіпоксії // Мат. міжнародної науково-практичної конференції «Клінічна фармація: 10 років в Україні».- Харків.- 2003.- С. 87;

10. Шеремета Р.О., Дякова О.В., Кирничний А.І. Порівняльна оцінка церебропротекторної дії кавінтону, вінборону, пірацетаму, пентоксифіліну,

емоксипіну та натрію оксибутирату // IV Українська міжнародна науково-практична конференція з клінічної фармакології.- Вінниця, 2004.-С. 166-167.

11. Дякова О.В., Степанюк Н.Г. Ефективність вінборону при гіпоксичних та ішемічних станах в експерименті // Мат. до наукової конференції студентів та молодих вчених.- Вінниця.- 2004.- С. 310.

12. Дякова О.В. Фармакопрофілактична ефективність вінборону на моделі гіпоксії замкнутого простору // Мат. X–ій наукової університетської (XXXX-ій вузівської) науково-практичної конференції молодих учених та фахівців.- Вінниця, 2004.- С. 66.

АНОТАЦІЯ

Дякова О.В. Профілактична ефективність вінборону при гіпоксичних станах (експериментальне дослідження). Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за фахом – 14.03.05. - фармакологія. - Інститут фармакології та токсикології АМН України, Київ, 2005.

На лабораторних тваринах вивчали фармакопрофілактичну ефективність вінборону на моделях гострої та хронічної Г. Встановлено, що вінборон, подібно до пентоксифіліну, справляє виразну протигіпоксичну дію на щурів та мишей в умовах гострих ГС. Це проявляється подовженням життя тварин, зниженням показника летальності та покращанням клінічної картини протікання ГС. Профілактичне одноразове введення вінборону білим мишам та щурам в оптимальних дозах (8 та 16 мг/кг в/о) на моделях Г замкнутого простору та гострої гіпобаричної Г підвищувало тривалість життя тварин на 58 та 104% відповідно ($p \leq 0,5$). За показником антигіпоксичної активності ($ЕД_{50}$) при Г замкнутого простору вінборон майже в 17 разів перевершує пентоксифілін. В умовах ХГГ з гіперкапнією профілактична дія вінборону проявляється підвищенням толерантності до фізичного навантаження, відновленням електричної стабільності міокарду, послаблюються розлади кровообігу, дистрофічні, проліферативні та склеротичні процеси в легенях, серці, печінці, нирках та наднирниках щурів. При цьому за рівнем профілактичної ефективності вінборон переважав пентоксифілін.

Протигіпоксична дія вінборону при ГС реалізується за рахунок нормалізації біоенергетичних процесів та відновлення показників АОС. Водночас, протигіпоксична дія вінборону пов'язана з наявністю судиннорозширюючого ефекту. Вазодилататорна дія вінборону проявляється також зростанням редукованого мозкового кровотоку в умовах тромбоемболії. При цьому вінборон активує метаболічні процеси в головному мозку. Сукупність вказаних фармакологічних властивостей вінборону ймовірно

забезпечує достатньо високу антигіпоксичну дію вінборону на моделях гострих та хронічних ГС.

Ключові слова: гіпоксія, вінборон, пентоксифілін

АННОТАЦИЯ

Дякова О.В. Профилактическая эффективность винборона при гипоксических состояниях (экспериментальное исследование). Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности –14.03.05- фармакология. - Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины, Киев, 2005.

Диссертация посвящена профилактической эффективности винборона при острых и хронических гипоксических состояниях.

На разных моделях ГС (Г замкнутого пространства, циркуляторной Г, острой гипобарической Г) показано, что винборон проявляет достаточно высокую эффективность при профилактическом введении в организм. На это указывало удлинение времени жизни, снижение летальности животных и улучшение клинической картины течения Г. Профилактическое введение винборона (6,6 мг/кг внутрибрюшинно) наркотизированным и ненаркотизированным крысам с циркуляторной Г (двусторонняя перевязка сонных артерий) полностью предотвращало гибель животных в критический период эксперимента (гибель больше 50% животных соответственно на 6 и 1 часе исследования). При разработке оптимального режима дозирования винборона установлено, что наиболее высокую фармакопрофилактическую эффективность винборон проявляет в дозе 8 мг/кг за 1 час до моделирования патологии. При этом среднеэффективная доза для человека составляет 1,26 мг/кг.

В основе профилактического действия винборона в условиях Г лежит его способность нормализовать биоэнергетические процессы в сердце и мозге крыс, снижать интенсивность процессов ПОЛ и повышать активность АОС организма. Важную роль в профилактическом действии винборона играют такие его свойства как стимулирующее влияние на микрогемоциркуляцию (за счет антиагрегантного эффекта), способность усиливать метаболические и репаративные процессы, а также вазодилатирующий эффект. Важно отметить, что по величине профилактического действия винборон сопоставим с пентоксифиллином.

Ключевые слова: гипоксия, винборон, пентоксифиллин.

SUMMARY

Dyakova O.V. – Prophylactic effectiveness of vinboron effects at hypoxic states (experimental study). - Manuscript.

Thesis for obtaining the scientific degree of Candidate of medical sciences in speciality 14.03.05 – Pharmacology.- Institute of Pharmacology and Toxycology AMS of Ukrain, Kyiv, 2005.

The dissertation deals with vinboron prophylactic effectiveness at acute and chronic hypoxic states.

Vinboron synthetized at the scientific production center of Borshshagovsky chemical pharmaceutical plant is a new home spasmolytic drug with polytropic pharmacological properties such as spasmolytic, analgetic, antiaggregation, antiischemic, antihypoxic, antioxydant, antiinflammatory, antiarrhythmic, immunomodulating ones. Vinboron has the ability to stimulate coronary and cerebral blood flow and reparation processes.

Prophylactic effectiveness of vinboron has been studied on the experimental animals on the models of acute and chronic hypoxia. It has been determined that vinboron similar to pentoxifylline produced significant antihypoxic effect on rats and mice in the condition of acute hypoxia. It resulted in length of life and improvment of the course of clinical picture. As to the indices of ED_{50} vinboron is 17 times higher than that of pentoxifylline. In the condition of circulatory hypoxia in the anesthetized and nonanesthetized rats vinboron (6,6 mg/kg) completely prevented the death of the experimental animals in a critical period (the death of more than a half of the animals during the sixth and the first hour of the experiment). In the state of chronic hypoxic hypoxia with hyperkapnia the prophylactic effects of vinboron manifests itself in increase of tolerance to physical exercises and recovery of electrical myocardial stability. Histological study of lungs, heart, kidneys, liver and adrenal glands demonstrated pronounced prophylactic effect of vinboron. Prophylactic injection of pentoxifylline improved the blood flow and corrected adaptation processes in myocardium, kidneys and adrenal glands but caused pronounced plethora in lungs with the development of multiple hemorrhages and hemosiderosis that may result in paradoxical effect that is increased hypoxia in this organ. In comparison with pentoxifylline vinboron does not cause sclerotic changes of internal organs and the destruction of hemodynamics which were observed under the action of pentoxifylline. Vinboron caused the increasing adaptation ability of organism to chronic hypoxic hypoxia with hyperkapnia. In this ability vinboron is preferable to pentoxifylline.

Antihypoxic effect of vinboron is realized first of all to the account of normalization of bioenergetic processes and recovery of oxydative-antioxydative balance in vital organs of rats. Preliminary injection of vinboron prevents from exaustion of adenine nucleotide reserves in the brain and heart. Adenosine triphosphoric acid and kreatine-phosphate is increased in comperison with the control animals. Vinboron as well as pentoxifylline prevents from matabolic acidosis in the

heart and brain of rats. Under the influence of vinboron there was a pronounced decrease of hydroperoxides content and malonic dialdegide in the heart and brain on the background of increase of superoxide dismutase and catalase in the myocardium with the decrease of its indices in the brain.

At the same time antihypoxic effect of vinboron is due to the presence of vasodilatative effect in rats. Under the conditions in vitro the drug (10^{-4} - 10^{-8} M) causes stable dose-depended relaxation of shortened by mesaton aorta rings, vasodilatation activity of vinboron being higher in the presence of endothelium than in deendotheliolized vessels. Vasodilatation action of vinboron is shown by the increase of the reduced level of cerebral blood flow in the anesthetized rats. Injection of vinboron unlike cavinton prevented the decrease of arterial pressure on the background of acute thromboembolism. At the examination of arterio-venous difference in cat's blood it was determined that ammonia content reliably decreases with the increase of glucose level up to that of intact animals.

Key words: hypoxia, vinboron, pentoxifylline

АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ

ДЯКОВА Оксана Василівна

УДК: 615 - 084:615.015: 616.152. 21. 001. 5

ПРОФІЛАКТИЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВІНБОРОНУ ПРИ ГІПОКСИЧНИХ СТАНАХ (експериментальне дослідження)

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Київ-2005

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор **СТЕПАНЮК Георгій Іванович**, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України, завідувач кафедри фармакології.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор **СОЛОВЙОВ Анатолій Іванович,** Інститут фармакології та токсикології АМН України, головний науковий співробітник відділу експериментальної терапії.

доктор медичних наук, професор **ЛУК'ЯНЧУК Віктор Дмитрович**, Луганський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри фармакології.

Провідна установа: Одеський державний медичний університет, кафедра загальної та клінічної фармакології МОЗ України, м. Одеса.

Захист дисертації відбудеться "____" _____2005 р. о ____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при Інституті фармакології та токсикології АМН України за адресою: 03057, Київ, вул. Е. Патьє, 14.

З дисертацію можна ознайомитись в бібліотеці Інституту фармакології та токсикології АМН України за адресою: 03057, Київ, вул. Е. Патьє, 14.

Автореферат розісланий "___"_____2005р.

Вчений секретар
спеціалізованї вченої ради Д 26.550.01
кандидат біологічних наук **Данова І.В.**

Підписано до друку 26.10.2005 р. Замовл. № 345.
Формат 60х90 1/16 Ум. друк. арк. 0,9 Друк офсетний.
Наклад 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М.І. Пирогова, Пирогова, 56.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Гіпоксія (Г) – один з найбільш поширених процесів, який становить основу багатьох захворювань або супроводжує їх (Л.Д. Лукьянова, 1990; С.А. Сергееева, 1991; В.С. Лаврова, 1994; Г.Г. Жданов, 1995; В.Д. Лукьянчук, 1998; А.В. Смирнов, 1998). Особливе місце серед станів Г посідає ішемія різних органів - серця, мозку, легень та ін. (Т.Ю. Макаревич, 1997). Значну актуальність в наш час набули ішемічна хвороба серця та судинна патологія головного мозку, які стали одними з основних причин інвалідизації та смерті людини (М.Б. Маньковский, 1996; О.Ф. Возіанов, 1996; Т.Ю. Макаревич, 1997). Тому антигіпоксичні препарати займають чільне місце в системі патогенетичного лікування гіпоксичних та ішемічних станів.

Незалежно від виду Г в основі характерних для неї розладів лежать енергодефіцит та активація вільнорадикальних процесів (Л.Д. Лукьянова, 1991), тому логічно, що одним з ефективних шляхів захисту від нестачі кисню є застосування антигіпоксантів (Аг), які повинні, в першу чергу, забезпечити корекцію енергетичного обміну і стабілізацію клітинних та субклітинних мембран. Для профілактики та лікування гіпоксичного синдрому (ГС) використовуються як специфічні: гутимін, амтизол, емоксипін, цитохром С, пірацетам, натрію оксибутират та ін.), так і неспецифічні: барбітурати, нейролептики та вазодилататори (пентоксифілін, но-шпа), адрено – та симпатоміметики, антиоксиданти, блокатори кальцієвих каналів, інгібітори циклооксигеназ, стабілізатори мембран та ін. Аг. Незважаючи на великий арсенал Аг проблема фармакокорекції порушень, які розвиваються при ГС, ще не вирішена. Це пов'язано з незавжди достатньою ефективністю препаратів даної групи, наявністю у них побічних ефектів (у пентоксифіліну – зниження артеріального тиску, алергічні реакції, набряки; натрію оксибутирату - блювота, порушення дихання; емоксипіну – помірне підвищення артеріального тиску, збудження або сонливість, висипки на шкірі; пірацетаму – роздратованість, диспепсичні явища, головна біль, порушення сну, загострення ішемії серця), які обмежують їх використання (М.Д. Машковский, 2002). Тому пошук та розробка нових високоефективних та безпечних Аг є нагальною задачею.

В останні роки в науковій літературі все частіше наголошується про перспективність використання в клінічній практиці лікарських препаратів з політропними фармакологічними властивостями, що може забезпечити необхідний рівень функціонування органів та систем (А.А. Абдуллаев и соавт., 1994; С.Г. Бурчинський, 2001; В.И. Погорелов и соавт., 2001; А.М. Демченко, 2001; В.Ф. Шенгур, 2001; О.І. Волошин та співавт., 2003). Цінність таких лікарських засобів полягає, в першу чергу, в тому, що вони дають змогу

усунути поліпрагмазію, при якій не виключена взаємодія ліків з виникненням ускладень (И.С. Чекман, 1980; Я.Я. Балткайс, В.А. Фатеев, 1991).

До числа препаратів з політропними властивостями відноситься вітчизняний спазмолітик вінборон (ресинтезований на НВЦ „Борщагівський ХФЗ" фенікаберан) (Л.В. Беспалько і співавт., 1998). Вінборону притаманний широкий спектр фармакологічних властивостей – знеболююча, антиоксидантна, протиішемічна, антиагрегантна, протизапальна, протиаритмічна, імуномодулююча, здатність стимулювати мікроциркуляторні та репаративні процеси (Н.Г. Степанюк, 2000; Г.І. Степанюк і співавт., 2002, С.В. Сергеєв, 2002, О.С. Пашинська, 2004), що свідчить про перспективність його вивчення в якості Аг.

Протигіпоксичні властивості вінборону раніше не досліджувались, що і стало підставою для проведення цієї роботи.

Зв'язок роботи з науковиим програмами, планами, темами. Робота виконана в рамках Держбюджетної наукової роботи Вінницького національного медуніверситету ім. М.І. Пирогова (ВНМУ) по темі: «Експериментальне обгрунтування доцільності застосування бензофурокаїну, вінборону та тіотріазоліну як лікарських засобів з політропними фармакологічними властивостями при гострих та хронічних запальних процесах» (№ Державної реєстрації 0199U004043).

Мета і задачі дослідження. Мета - експериментально обгрунтувати доцільність застосування вінборону для профілактики порушень, які виникають при Г та дослідити механізми його дії.

Для досягнення мети були поставлені наступні **задачі**:

3. Встановити антигіпоксичні властивості вінборону на моделях гострих ГС (гострої гіпобаричної Г, Г замкнутого простору, циркуляторної Г та гемічної Г) та порівняти їх з Аг різних фармакологічних груп (ноотропи, неінгаляційні наркозні засоби, засоби, що покращують мозковий кровообіг, Аг).

2. Розробити оптимальний дозовий режим застосування вінборону в умовах Г замкнутого простору з екстраполяцією на людину.

3. Дослідити фармакокінетику вінборону при пероральному введенні в організм на моделі експериментальної гострої гіпоксичної гіпоксії (ГГГ).

4. Встановити фармакопрофілактичну ефективність вінборону в умовах хронічної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією (ХГГ з гіперкапнією).

5. Дослідити механізми протигіпоксичної дії вінборону.

6. Обгрунтувати доцільність застосування вінборону в якості засобу для профілактики порушень гіпоксичного генезу.

Об'єкт дослідження – патологічні зміни, що виникають в організмі при ГС.

Предмет дослідження – антигіпоксичні властивості вінборону.

Методи дослідження. В роботі використані фармакологічні, патофізіологічні, фармакокінетичні, біохімічні, морфологічні, математичні та статистичні методи.

Наукова новизна отриманих результатів.

У роботі вперше теоретично обгрунтована та експериментально доведена на різних моделях Г доцільність застосування вінборону, як лікарського засобу з політропними фармакологічними властивостями, для профілактики порушень, що виникають при ГС. Встановлено, що за величиною антигіпоксичної активності ($ЕД_{50}$) вінборон майже в 17 разів перевершує пентоксифілін, співставляючись з емоксипіном на моделі Г замкнутого простору. Вперше доведено, що профілактична дія вінборону в умовах ХГГ з гіперкапнією проявляється зростанням фізичної витривалості, відновленням електричної стабільності міокарду, попередженням дистрофічних та проліферативних процесів у внутрішніх органах дослідних тварин. За фармакопрофілактичною ефективністю вінборон перевершує пентоксифілін. Механізм протигіпоксичної дії вінборону пов'язаний з вазодилататорним ефектом, спроможністю стимулювати мозковий кровотік та метаболічні процеси в життєво важливих органах (ЖВО), гальмівним впливом на процеси перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) на тлі зростання активності антиоксидантної системи (АОС).

Практичне значення одержаних результатів.

Експериментально обгрунтована доцільність застосування вінборону як лікарського засобу з політропними фармакологічними ефектами для профілактики порушень гіпоксичного генезу. Розроблено оптимальний режим дозування вінборону з екстраполяцією на людину в умовах гіпоксичних станів. Результати проведеного дослідження впроваджено в педагогічний процес кафедри фармакології та патологічної фізіології ВНМУ, кафедр фармакології Луганського, Тернопільського, Запорізького, Буковинського державних медичних університетів та Львівського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно проведено інформаційний пошук, аналіз наукової літератури за темою дисертації, визначені задачі і мета дослідження, опрацьовані моделі, згідно з якими особисто виконано експериментальні дослідження, здійснено статистичну обробку отриманих даних та оформлення їх у вигляді таблиць і рисунків, проаналізовано результати досліджень, сформульовано основні положення та висновки роботи. Гістологічні дослідження автором проведені при консультативній допомозі доцента кафедри патологічної анатомії ВНМУ В.Т.

Рауцкієне та завідувача кафедри гістології ВНМУ проф. М.С. Пушкаря; біохімічні дослідження виконані на базі лабораторії кафедри загальної та біологічної хімії ВНМУ (зав. проф. О.О. Пентюк).

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи доповідались на науково - практичній конференції «Медицина будущего» (Краснодар – Сочи, 2002); міжнародній науково-практичній конференції «Клінічна фармація: 10 років в Україні» (Харків, 2003), міжнародному симпозіумі «Актуальні питання сучасної медичної допомоги населенню» (Чернівці, 2003); науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (Вінниця, 2004); XI Російському національному конгресі «Человек и лекарство» (Москва, 2004); X-ій науковій університетській (XXXX-ій вузівській) науково-практичній конференції молодих учених та фахівців (Вінниця, 2004), IV Українській міжнародній науково - практичній конференції з клінічної фармакології (Вінниця, 2004), на розширеному засіданні наукових товариств фармакологів, патофізіологів, біохіміків та морфологів ВНМУ ім. М.І. Пирогова 23.11.2004.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 12 наукових робіт, з них 6 статей в фахових журналах ВАК України та 6 тез у збірниках праць з'їздів і конференцій.

Структура та об'єм дисертації. Матеріали дисертації викладені на 140 сторінках рукопису і складаються із вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали і методи дослідження», п'ятьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел. Покажчик літератури містить 379 вітчизняних та 77 зарубіжних джерел. Робота ілюстрована 15 таблицями та 28 рисунками, з яких 23 мікрофотографії.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали, моделі і методи дослідження. Експерименти проведено на 692 нелінійних білих щурах обох статей масою 130 – 400 г, 23 кішках обох статей масою 3,5 - 5 кг та 70 білих мишах масою 17-32 г. Всі тварини утримувались у віварії ВНМУ на стандартному водно-харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі. Тварини отримували стандартне харчування у вигляді збалансованого гранульованого корму за встановленими нормами. Дослідження проводили в лабораторії кафедри фармакології ВНМУ ім. М.І. Пирогова, сертифікованої Державним фармакологічним центром МОЗ України (посвідчення №51 від 30. 05. 2002) з врахуванням методичних рекомендацій

ДФЦ МОЗ України “Доклінічні дослідження лікарських засобів” (О.В. Стефанов, 2001).

В дослідах використовували ін’єкційну лікарську форму вінборону у вигляді ліофілізованого порошку по 0,01 в ампулах (НВЦ “Борщагівський ХФЗ”). Протигіпоксичну дію вінборону порівнювали з відомими Аг: розчини натрію оксибутирату 20% (Ризький ФЗ, Латвія), емоксипіну 1% (“Белмедпрепарат”, Росія), пентоксифіліну 2% (Дарниця, Україна), пірацетаму 20% (Дарниця, Україна), кавінтону (Gedeon Richter, Угорщина).

Г замкнутого простору моделювали шляхом розміщення щурів у ізольовані гермооб'єми (V=0,001 $м^3$). Спостереження за тваринами проводили до моменту їхньої загибелі з наступним розрахуванням коефіцієнту захисту - Кз (В.Д. Лук'янчук і співавт., 2002). Антигіпоксичну активність вінборону, емоксипіну та пентоксифіліну оцінювали за показником $ЕД_{50}$ (середньоефективна доза препарату, яка сприяла збільшенню тривалості життя експериментальних тварин на 50% по відношенню до контрольної групи), яку розраховували графічно за методом Литчфілда-Уілкоксона (М.Л. Беленький, 1963). Досліджувані препарати вводили одноразово внутрішньоочеревинно (в/о) за 1 год до початку моделювання Г в дозах: вінборон - 2,3 - 18,5% від $ЛД_{50}$; емоксипін – 2,5 - 20 мг/кг, пентоксифілін – 50,0 - 200,0 мг/кг маси тіла щурів, в терапевтично ефективних дозах, запозичених з літератури (В.В. Юшкова, 1999; В.Е. Погорелый, 1999; І.П. Бєлоусова, 2000; О.А. Коробков, 2002). Ефективність препаратів оцінювали за показником середньої тривалості життя, а також за перебігом клінічної картини.

Циркуляторну Г (ішемію) мозку відтворювали на наркотизованих (тіопентал – натрій 70 мг/кг в/о) щурах шляхом оклюзії обох загальних сонних артерій. Вінборон, натрію оксибутират, пірацетам, емоксипін, пентоксифілін вводили одноразово за 1 год в/о до створення гострого порушення мозкового кровооообігу (ГПМК). Фармакопрофілактичну ефективність досліджуваних препаратів на даній моделі Г оцінювали за динамікою показника летальності щурів, а також клінічними симптомами перебігу ГПМК (В.Д. Лук'янчук та співавт., 2002). Циркуляторну Г (ішемію) мозку моделювали шляхом підведення лігатури під судини під каліпсоловим наркозом (50 мг/кг в/о) за 24 год до моделювання патологічного стану. Препарати вводили одноразово в/о за 60 хв до моделювання ГПМК: вінборон в дозі 6,6 мг/кг (доза, що становить $ЕД_{50}$ при Г замкнутого простору), для референс – препаратів взято оптимальні терапевтично ефективні дози, запозичені з літератури: емоксипін 10 мг/кг, пірацетам 250 мг/кг, пентоксифілін 110 мг/кг, натрію оксибутират 300 та 500 мг/кг (Н.А. Сысолятина, 1998; В.В. Юшкова, 1999; І.П. Бєлоусова, 2000; В.Д. Лук'янчук та співавт., 2002; О.Ю. Бибик, 2002; О.В. Дякова, 2003).

Ефективність досліджуваних лікарських засобів оцінювали за динамікою показника летальності та клінічною картиною перебігу Г.

Стан метаболічних процесів в мозку та серці вивчали на моделі ГГГ у щурів, яку створювали шляхом «підйому» тварин в барокамері на висоту 8000 м над рівнем моря зі швидкістю 50 м/с, експозиція тривала 30 хв. Вінборон (6,6 мг/кг в/ш) та пентоксифілін (116 мг/кг в/ш) вводили з профілактичною метою за 60 хв до початку моделювання ГС в дозах, що дорівнюють їх $ЕД_{50}$ (І.П. Белоусова, 2000; О.В. Дякова, 2003).

Гостру гіпобаричну Г у мишей відтворювали шляхом «підйому» тварин на висоту 8000 м за допомогою спеціальної установки. Піддослідних тварин витримували на даній висоті до загибелі (В.Г. Личко, 2000). Вінборон в дозі 4 - 32 мг/кг; пентоксифілін 50 - 200 мг/кг; пірацетам 100 - 750 мг/кг; емоксипін 5 - 20 мг/кг та натрію оксибутират 50 - 150 мг/кг вводили одноразово в/о за 1 год до моделювання патології (І.П. Бєлоусова, 2000; Р.А. Ахундов, 2001; О.А. Коробков, 2002; О.Ю. Бибик, 2002; Т.А. Скочко-Волкова, 2002).

Гостру гемічну Г моделювали шляхом введення натрію нітриту підшкірно в дозі 120 мг/кг (Н.Ф. Иваницкая, 1975). Вінборон вводили в дозі 6,6 мг/кг та пентоксифілін в дозі 110 мг/кг в/о за 60 хв до введення метгемоглобіноутворювача (І.П. Белоусова, 2000; О.В. Дякова, 2003). Ефективність препаратів оцінювали за зміною часу життя тварин (В.Д. Лук'янчук та співавт., 2002).

ХГГ з гіперкапнією моделювали шляхом «підйому» тварин в барокамері ($V = 0{,}324$ $м^3$) на висоту 8000 м над рівнем моря зі швидкістю 50 м/с. Експозиція тривала 5 год щоденно на протязі 5 тижнів (Ф.З. Меерсон, 1981). Рівень двоокису вуглецю (CO_2) визначали фотометричним методом. Концентрацію CO_2 (об%) знаходили за калібрувальним графіком (М.Д. Манита, Р.М. Салихджанова, 1980). Вінборон та пентоксифілін вводили в дозах, що дорівнюють їх $ЕД_{50}$, - 6,6 та 100 мг/кг відповідно, з профілактичною метою щоденно внутрішньошлунково (в/ш) за 60 хв до «підйому» тварин в барокамері (І.П. Бєлоусова., 2000; О.В. Дякова, 2003). Електричну стабільність міокарду щурів в умовах ХГГ з гіперкапнією оцінювали за допомогою електростимулятора ЕС – 50-1, який дозволяє наносити “пачку” із 99 тестуючих імпульсів необхідної тривалості в найбільш вразливий період серцевого циклу, який реєстрували на електрокардіографі “Малиш” в другому стандартному відведенні (В.А. Люсов, Н.И. Савчук, 1991; K. Torfgard, J. Althner, 1994). Рівень фізичної виносливості оцінювали за допомогою плавальної проби: враховували тривалість плавання (в с) кожної тварини до повного стомлення (занурювання) у воді з температурою 37^0С з вантажем, що складав 15% маси тіла (Б.Г. Исаев, 1988; А.В. Цибанев, 1991). Дослідження морфологічної структури серця,

легенів, печінки, нирок та наднирників в умовах ХГГ з гіперкапнією проводили після забарвлення гістологічних зрізів гематоксилін-еозином з використанням світлової мікроскопії (Е. Пирс, 1962).

При розробці дозового режиму в умовах гострої Г вінборон вводили в/о з профілактичною метою за 1 та за 2 год до початку моделювання ГС в дозах: 2,0; 4,0; 8,0; 16,0 та 32,0 мг/кг (2,3; 4,6; 9,3; 18,5 та 37% від $ЛД_{50}$). Екстраполяцію доз вінборону на людину проводили за константами біологічної активності (Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев, 1979).

Фармакокінетику вінборону вивчали на інтактних щурах та щурах з моделлю ГГГ. Вінборон вводили одноразово в/ш натще за 15 хв до моделювання Г в дозі 100 мг/кг (близько 12% від $ЛД_{50}$) у вигляді 2% водного розчину. Кров для досліджень брали в обох групах (одночасно у 3-4 тварин) через 15, 30, 60, 120, 240, 360 та 480 хв після введення препарату. Вміст вінборону в плазмі крові (мкг/мл) визначали за методом Р.А. Мусіна та співавт. (2002) з використанням калібрувального графіка.

Вміст аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ), лактату та пірувату в гомогенатах мозку та серця щурів в умовах ГГГ проводили за загальноприйнятими методиками (М.И. Прохорова, 1982). Вміст креатинфосфату (КФ) визначали за методом P. Ergliton et al. (1954) на спектрофотометрі при довжині хвилі 525 нм. Концентрацію глікогену та глюкози визначали методом, описаним В.В. Меньшиковим (1987). Стан ПОЛ оцінювали за вмістом гідроперекисів ліпідів (ГП) (А.А. Романів, І.Д. Стальна, 1988) та малонового диальдегіду (МДА) (І.Д. Стальна, Г.Г. Гаришвілі, 1977), стан АОС - за активністю каталази (М.А. Королюк и соавт., 1988) та супероксиддисмутази (СОД) (В.А. Костюк з співавт., 1990).

ГПМК моделювали у щурів та кішок під нембуталовим наркозом (40 мг/кг в/о) шляхом введення у внутрішню сонну артерію 0,2% завісі лікоподію в крохмальному клейстері (А. Фохт, 1920). Рівень мозкового кровотоку у щурів визначали за допомогою флоуметра Transonic® Animal Research Flowmeters T 106 Series. Периваскулярний датчик, надягнутий на внутрішню сонну артерію, фіксував об'ємну швидкість кровотоку (мл/хв). Результати моніторингу були зафіксовані на жорсткому диску комп'ютера у вигляді графічних даних. Паралельно у кішок з ГПМК визначали динаміку артеріального тиску (АТ) в стегновій артерії (за допомогою датчика Transpac® Pressure Transducer), а також проводили забір крові для визначення артеріо - венозної різниці (АВР) вмісту аміаку та глюкози. Концентрацію глюкози в крові визначали стандартним ортотолуїдиновим методом, аміаку - методом ізотермічної перегонки з наступною реакцією його з реактивом Несслера (В.В. Меньшиков, 1987)

Вивчення вазоділататорної активності вінборону in vitro проведено на кільцевих фрагментах аорти, ізольованих у щурів - самців лінії Вістар. Силу скоротливих реакцій кілець аорти реєстрували в ізометричному режимі. В окремій серії дослідів ділататорні реакції скорочення гладеньких м'язів аорти досліджували на деендотелізованих фрагментах судин, що підтверджувалося повною відсутністю ділататорних відповідей на АХ (В.П. Реутов и соавт., 1997, S.W. Ballinger et al., 2000).

Усі використані одиниці виміру і параметри наведені відповідно до МСО (Г. Ліперт, 1980). Комп'ютерну обробку числового матеріалу проводили із використанням програмного пакета Origin 7.5 (OriginLab Co., USA), EXEL 5.0. При нульовому та 100% значенні показників використовували метод Р.Б. Стрелкова (1998). Зміни вважали статистично вірогідними при $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Дослідження протигіпоксичних властивостей вінборону на різних моделях гіпоксії.

На різних за генезом моделях Г встановлено, що превентивне в/о введення щурам та мишам вінборону, подібно до референс - препаратів, справляло виразну антигіпоксичну дію, що проявлялось подовженням тривалості життя, зниженням показника летальності та покращанням клінічної картини.

На моделі Г замкнутого простору захисна дія вінборону, як і емоксипіну та пентоксифіліну, була дозозалежною (табл.1).

Таблиця 1.

Протигіпоксична ефективність вінборону в порівнянні з іншими ангигіпоксантами (M ± m, n = 7).

Умови досліду	Доза, мг/кг	Середня тривалість життя, хв	Ефектив-ність профілак-тики,%	Кз	ЕД50, мг/кг
Гіпоксія (контроль)	-	41,8 ± 1,21	-	-	-
Вінборон	2,0	49,3 ± 0,96*	+17,9	1,18 ± 1,05	

+ гіпоксія	4,0	56,0 ± 1,42*	+34,0	1,34 ± 1,27	6,6 (2,64÷16,5)
	8,0	66,04 ± 1,84*	+58,0▼	1,58 ± 1,5	
	16,0	56,85 ± 1,51*	+36,0	1,36 ±1,31	
Емоксипін + гіпоксія	2,5	47,65 ± 0,65*	+14,0	1,14 ± 0,93	10,0 (4,25÷23,5)
	5,0	52,67 ± 0,84*	+26,0	1,26 ± 1,0	
	10,0	62,85 ± 0,99*	+51,0▼	1,50 ± 1,06	
	20,0	59,36 ± 1,00*	+42,0	1,42 ± 1,07	
Пентокси-філін + гіпоксія	50,0	52,0 ± 1,03*	+24,4	1,24 ± 1,08	110,0 (73,3÷165)
	100,0	61,4 ± 1,10*	+46,0	1,47 ± 1,11	
	150,0	57,6 ± 1,57*	+37,0	1,38 ± 1,35	
	200	46,39 ± 0,87*	+11,0	1,11 ± 1,01	

Примітка. * - $p \leq 0,05$ відносно контролю.

▼ – $P<0,025$ відносно контролю (розраховано за допомогою точного методу Фішера для чотирьохпільної таблиці)

Найбільшу захисну дію вінборон проявив в дозі 8 мг/кг: середня тривалість життя тварин збільшилась на 58% відносно контролю. Кз становив 1,58 проти 1,5 та 1,47 відповідно для емоксипіну та пентоксифіліну, взятих в оптимальних антигіпоксичних дозах, тобто за величиною Кз вінборон практично співставлявся з референс-препаратами. При цьому за ступенем антигіпоксичної активності (за показником $ЕД_{50}$) вінборон майже в 17 разів переважав пентоксифілін, співставляючись з емоксипіном.

Протигіпоксична дія вінборону чітко проявилась і на моделі циркуляторної Г (ішемії) мозку у наркотизованих щурів (табл. 2).

При цьому за величиною захисної дії в критичний період експерименту (в перші 6 год експерименту) вінборон переважав емоксипін, співставляючись з пірацетамом, натрію оксибутиратом та пентоксифіліном. На 36 год дослідження, коли в контролі показник летальності становив 100%, за ступенем профілактичної дії вінборон практично не відрізнявся від препаратів порівняння.

Таблиця 2.

Вплив вінборону, натрію оксибутирату, емоксипіну, пентоксифіліну та пірацетаму на летальність (%) наркотизованих щурів в умовах циркуляторної гіпоксії мозку (n=10)

Групи тварин	Препарат	Доза, Мг/кг	Строки досліджень, год				
			1	6	12	24	36
1	Контроль	-	40	70	80	80	100
2	Вінборон	6,6	0*[1]	0[*1,3]	10[*1,3,5]	40[*1]	70
3	Емоксипін	10	0[*1]	40[*2]	50[*2]	60	80
4	Пірацетам	250	10	10[*1]	20[*1]	40[*1]	70
5	Пентоксифілін	110	10	30	60[*2]	70	80
6	Натрію оксибутират	500	10	20[*1]	30[*1]	60	70

Примітка. * - статистично вірогідний результат при $p \leq 0,05$. Цифра біля * означає номер групи, з якою проводилось порівняння.

Високий ступінь захисної дії вінборону знайшов підтвердження на моделі циркуляторної Г у ненаркотизованих тварин: попереднє введення вінборону (6,6 мг/кг в/о) повністю запобігало летальності тварин в критичний період експерименту (1-ша год), в той час як в контролі загинуло 60% щурів. При цьому за ефективністю вінборон практично співставлявся з пірацетамом, пентоксифіліном, емоксипіном та натрію оксибутиратом в зазначений період досліду: летальність становила відповідно 10, 20, 10 та 20% ($p \leq 0,05$).

Дозозалежна протигіпоксична дія вінборону чітко проявилась і на моделі гострої гіпобаричної Г у мишей (табл. 3). Найбільшу активність досліджуваного препарату виявлено в дозі 16 мг/кг: Кз становив 2,04. В оптимальній протигіпоксичній дозі вінборон практично співставлявся з емоксипіном, пентоксифіліном, натрію оксибутиратом та пірацетамом за величиною Кз, перевершуючи референс-препарати в активності (по $ЕД_{50}$) відповідно в 1,3; 10,3; 18,6 та 40 разів. Ці дані свідчать про більш високу антигіпоксичну активність досліджуваного лікарського засобу.

На моделі гострої гемічної Г фармакопрофілактична дія вінборону, як і пентоксифіліну, не проявилась.

Таблиця 3.

Протигіпоксична дія вінборону на моделі гострої гіпобаричної гіпоксії (M±m, n=10).

Умови досліду	Доза, мг/кг	Середня тривалість життя, хв	Ефектив-ність профілак-тики, %	Кз	$ЕД_{50}$, мг/кг
Гіпоксія (контроль)	-	2,53 ± 0,41	-	-	-
Вінборон + гіпоксія	4	3,6 ± 0,59	+42	1,42 ± 0,49	5,2 (2,88 ÷ 9,36)
	8	4,21 ± 0,48*	+66▼	1,66 ± 0,43	
	16	5,18 ± 0,54*	+104,7▼	2,04 ± 0,46	
	32	3,49 ± 0,50	+ 38	1,38 ± 0,44	
Пентокси-філін + гіпоксія	50	3,7 ± 0,71	+46	1,46 ± 0,56	97,0 (19,7 ÷ 236,5)
	100	4,07 ± 0,56	+61▼	1,60 ± 0,47	
	125	4,17 ± 0,81	+65▼	1,64 ± 0,62	
	150	4,70 ± 0,65*	+86▼	1,85 ± 0,52	
	200	3,80 ± 0,69	+50▼	1,5 ± 0,55	
Пірацетам + гіпоксія	100	3,18 ± 0,53	+26	1,25 ± 0,46	207,0 (34,5 ÷ 1242,0)
	250	3,99 ±0,66	+58▼	1,57 ± 0,53	
	500	5,11 ± 0,76*	+102▼	2,01 ± 0,59	
	750	4,72 ± 0,53	+86▼	1,86 ± 0,46	
Емоксипін + гіпоксія	5,0	3,76 ± 0,86	+49	1,48 ± 0,65	6,9 (3,63 ÷ 13,11)
	10,0	3,99 ± 1,06	+58▼	1,57 ± 0.77	
	20,0	4,94 ± 0,65*	+95,6▼	1,95 ± 0,52	
Натрію Оксибутират + Гіпоксія	50	3,74 ± 0,72	+48	1,47 ± 0,56	55,0 (12,8÷ 236,5)
	100	4,85 ± 1,06	+92▼	1,91±0,77	
	150	4,55 ± 0,91	+80▼	1,79±0,68	

Примітка. * $p \leq 0,05$ відносно контролю.

▼ – $P<0,025$ відносно контролю (розраховано за допомогою точного методу Фішера для чотирьохпільної таблиці)

Розробка дозового режиму використання вінборону в умовах впливу на організм гіпоксії замкнутого простору. При розробці оптимального режиму дозування вінборону було встановлено, що з усіх випробуваних доз найбільш ефективною виявилася доза 8 мг/кг при одноразовому в/о введенні за 1 год до відтворення ГС: мало місце подовження середньої тривалості життя експериментальних тварин на 58% і покращання перебігу клінічної картини ГС. При цьому, виходячи з функції залежності ефективності препарату від його дози, була обчислена середня ефективна доза препарату ($ЕД_{50}$), яка склала 6,6 мг/кг. Ізоефективна доза вінборону, розрахована за константами біологічної активності (Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев, 1979), для людини склала 1,26 мг/кг.

Дослідження фармакокінетики вінборону при гострій гіпоксичній гіпоксії.

Фармакокінетичні параметри вінборону (100 мг/кг в/ш) у щурів в умовах ГГГ істотно змінюються в порівнянні з інтактними тваринами: на 34% зростає період розподілу препарату в камерах організму ($t_{1/2\alpha}$), в 2,6 рази збільшується об'єм розподілу препарату в центральній камері (V_d). Разом з цим в зазначених умовах спостерігається значне сповільнення виведення вінборону з організму, на що вказує зменшення у 7 разів показника константи елімінації ($К_{el}$), зменшення в 2,6 рази кліренсу (Cl_t), збільшення в 2,6 рази площі під фармакокінетичною кривою (AUC, мкг.хв.мл$^{-1}$) та збільшення в 2,7 рази часу утримання вінборону в плазмі крові щурів (MRT). Отримані дані вказують на те, що гостра Г викликає затримку препарату в організмі та гальмує його елімінацію.

Оцінка фармакопрофілактичної ефективності вінборону в умовах хронічної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією.

Щоденне введення вінборону (6,6 мг/кг в/ш) щурам протягом 35 днів в умовах моделювання ХГГ з гіперкапнією протидіяло порушенню електричної стабільності міокарду. На це вказувало підвищення рівня порогу фібриляції шлуночків серця (ПФШС) на 36 добу майже до рівня інтактних тварин. Ефективність пентоксифіліну (100 мг/кг в/ш) при цьому була значно меншою: ПФШС в зазначений термін виріс лише на 9,4% ($p > 0,05$). В заданих умовах вінборон ефективніше за пентоксифілін посилював фізичну витривалість тварин: вірогідно зростала тривалість плавальної проби відповідно на 107,9% та 58% відносно контролю. Сприятливий вплив вінборону позначився і на мікроструктурі внутрішніх органів щурів. В зазначених умовах вінборон, на відміну від пентоксифіліну, повністю блокував розвиток функціонального виснаження та профілактував виникнення дистрофічних та проліферативних

процесів у легенях, міокарді та наднирниках, покращував в них процеси регенерації.

Вивчення механізмів протигіпоксичної дії вінборону. Для визначення шляхів реалізації антигіпоксичної дії вінборону досліджено його вплив на метаболічні процеси в головному мозку та серці щурів з ГГГ. Встановлено, що профілактичне одноразове введення вінборону (6,6 мг/кг в/ш) щурам з ГГГ, подібно до пентоксифіліну (116 мг/кг в/ш), запобігало виснаженню резервів вмісту макроергів в ЖВО тварин. Рівень АТФ вірогідно зростав відносно контрольних тварин на 31,7% та 43,8%, КФ – на 78,8% та 81,2% відповідно. Превентивне введення вінборону, так само як і пентоксифіліну, сприяло зростанню рівня глюкози в мозку щурів відповідно на 36,7% та 20% ($p \leq 0,05$), практично не впливаючи на її вміст в міокарді (рис.1). Водночас, в умовах ГГГ, вінборон сприяв зростанню вмісту глікогену в міокарді, практично не змінюючи його рівень в мозку, в той час як пентоксифілін викликав вірогідне відновлення вмісту глікогену в ЖВО щурів з ГГГ.

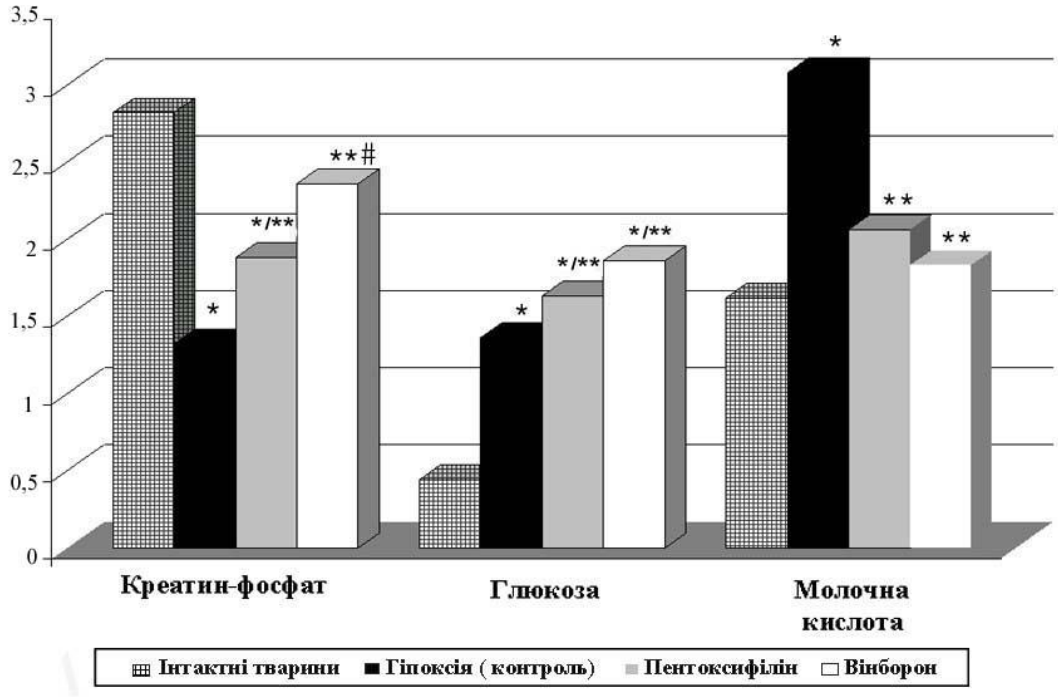

Рис.1. Динаміка КФ, глюкози та молочної кислоти (мкмоль/г) в мозку щурів в умовах ГГГ при профілактичному введенні вінборону та пентоксифіліну.

Примітки: * - $p \leq 0,05$ відносно інтактних щурів; ** - $p \leq 0,05$ відносно контролю; #- $p \leq 0,05$ відносно пентоксифіліну.

Профілактичне введення вінборону, як і пентоксифіліну, профілактувало виникнення цитоплазматичного ацидозу в клітинах головного мозку та серця, про що свідчило зниження рівня молочної кислоти на 40,5% та 41,81% (рис.1) та показника лактат/піруват на 45,02% та 63% відповідно.

Вінборон, подібно до пентоксифіліну, протидіяв зростанню в ЖВО вмісту ГП та МДА на тлі зростання активності ферментів природньої АОС (рис.2).

Рис. 2. Динаміка ГП, МДА, СОД та каталази в мозку щурів в умовах ГГГ при профілактичному введенні вінборону та пентоксифіліну.

Примітки: * - $p \leq 0,05$ відносно інтактних тварин; # - $p \leq 0,05$ відносно контролю.

Профілактичне введення вінборону сприяло зниженню в мозку ГП та МДА на 15,6% та 29,6% відповідно. При цьому спостерігалась активізація СОД в мозку на 33,3% при зниженні каталази в мозку на 32,4% відповідно (рис.2). Аналогічна динаміка зазначених показників оксидантно-антиоксидантної рівноваги на фоні дії вінборону спостерігається і в серцевому м'язі. При цьому за спроможністю відновлювати стан АОС вінборон співставляється з референс-препаратом.

Внутрішньовенне введення кішкам вінборону (3 мг/кг), подібно до кавінтону (5 мг/кг в/в), вірогідно профілактувало зміни кровообігу, редукованого в умовах тромбоемболії: на 20 хв експерименту рівень мозкового кровотоку знизився відносно початкової величини відповідно на 41,8%, 29,5% проти 73,5% у нелікованих тварин. Введення вінборону, на відміну від кавінтону, гальмувало зниження АТ на тлі ГПМК. Здатність препаратів стимулювати об'ємну швидкість мозкового кровотоку супроводжувалось поліпшенням метаболізму в головному мозку, на що вказувала позитивна динаміка АВР за аміаком та глюкозою в крові у кішок з експериментальною тромбоемболією. Таку дію вінборону, як і референс-препарату, можна розцінити як наявність судиннорозширюючого ефекту, що знайшло підтвердження в дослідах in vitro: введення вінборону (10^{-4} - 10^{-8} М) в

омиваючий розчин Кребса викликало стійке та дозозалежне розслаблення скорочених мезатоном кілець аорти, яке тривало зберігалося і після відміни препарату. На кільцях аорти з інтактним ендотелієм спостерігалось повільне та поступове відновлення сили м'язевого скорочення. Розслаблення деендотелізованих фрагментів мало незворотній характер в інтервалі більше 2 год після відміни препарату.

Узагальнюючи результати проведеного дослідження, можна стверджувати, що вінборон, подібно до пентоксифіліну, справляє виразну фармакопрофілактичну дію на тварин на різних моделях ГС. Фармакопрофілактична ефективність вінборону, як і пентоксифіліну, при гострій Г реалізується за рахунок усунення енергодефіциту, спроможності попереджати активацію ПОЛ та стимулювати активність АОС. Важливу роль в антигіпоксичній дії препарату відіграє його стимулюючий вплив на мікрогемоциркуляцію, за рахунок антиагрегантного ефекту та зниження потреби тканин в кисні (Г.И. Степанюк и соавт., 2000). Вінборону притаманна вазодилататорна активність, яка за тривалістю та амплітудою довше зберігається на інтактних судинах.

ВИСНОВКИ

В дисертації наведено нове вирішення наукової задачі щодо фармакопрофілактики порушень, які виникають при ГС, шляхом використання вінборону.

1. Профілактичне одноразове введення вінборону білим мишам та щурам в оптимальних дозах (8 та 16 мг/кг в/о) на моделях Г замкнутого простору та гострої гіпобаричної Г підвищувало тривалість життя тварин на 58 та 104% відповідно ($p \leq 0,5$). В умовах циркуляторної Г у наркотизованих і ненаркотизованих щурів вінборон (6,6 мг/кг в/о) повністю запобігав летальності тварин в критичний період експерименту (загибель більшої половини тварин відповідно на 6 та 1 год досліду). За показником протигіпоксичної активності ($ЕД_{50}$) на моделі Г замкнутого простору вінборон майже в 17 разів перевершує пентоксифілін, співставляючись з емоксипіном: $ЕД_{50}$ відповідно становить 6,6; 110 та 10 мг/кг в/о.

2. Фармакокінетичні параметри вінборону (100 мг/кг в/ш) у щурів з ГГГ вірогідно змінюються відносно інтактних тварин: на 34% зростає період розподілу препарату в камерах організму, в 2,6 рази збільшується об'єм розподілу препарату в центральній камері, сповільнюється виведення з організму, на що вказує зменшення у 7 разів показника константи елімінації,

зменшення в 2,6 рази кліренсу, збільшення площі під фармакокінетичною кривою (у 2,6 рази) та часу утримання вінборону (в 2,7 рази) в плазмі крові.

3. При ХГГ з гіперкапнією введення вінборону (6,6 мг/кг в/ш протягом 35 днів), так само як і пентоксифіліну (100 мг/кг в/ш), вірогідно підвищує фізичну витривалість щурів на 107,9% та 58% відповідно. При цьому вінборон ліпше, ніж пентоксифілін, відновлює електричну стабільність міокарду, блокує розвиток функціонального виснаження та профілактує виникнення дистрофічних та проліферативних процесів у серці, легенях, печінці, нирках та наднирниках тварин. За рівнем фармакопрофілактичної ефективності вінборон перевершує референс-препарат.

4. Протигіпоксична дія вінборону обумовлена вазодилататорним ефектом: в умовах in vitro препарат (10^{-4}- 10^{-8} М) викликає стійке дозозалежне розслаблення скорочених мезатоном кілець аорти. При цьому вазодилататорна активність вінборону більш висока в присутності ендотелію, ніж на деендотелізованих судинах. Вазодилататорна дія вінборону проявляється зростанням на 32% ($p < 0,05$) рівня редукованого (тромбоемболія) мозкового кровотоку у наркотизованих щурів.

5. Антигіпоксична дія вінборону (6,6 мг/кг в/ш), як і пентоксифіліну (116 мг/кг в/ш), обумовлена спроможністю препарату профілактувати порушення метаболічних процесів в ЖВО. Превентивне введення вінборону щурам з ГГГ запобігає виснаженню резервів макроергів в мозку та серці: рівень АТФ зростав відносно контрольних тварин на 31,7% та 43,8% відповідно, КФ – на 78,8% та 81,2% ($p \leq 0,05$) відповідно. При цьому вінборон, подібно до пентоксифіліну, протидіяв розвитку метаболічного ацидозу в ЖВО.

6. Фармакопрофілактична дія вінборону, як і пентоксифіліну, пов′язана з антиоксидантним ефектом. Під впливом вінборону має місце вірогідне зниження в серці та мозку вмісту ГП відповідно на 14,2% та 15,6% ($p \leq 0,05$), МДА - відповідно на 31,5% та 29,6% ($p \leq 0,05$) на фоні зростання активності СОД на 35,7% та 33% відповідно ($p \leq 0,05$) та каталази в міокарді на 14,8% при зниженні її показника в мозку на 32,4% ($p \leq 0,05$). При цьому за величиною антигіпоксичного ефекту вінборон не поступався пентоксифіліну.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Волощук Н.І., Сергеєв С.В., Шаламай А.С. Терапевтична ефективність вінборону при гострому порушенні мозкового кровообігу в експерименті // Ліки.- 2002.- №5-6.- С. 59-62 (Дисертантом особисто проведено експериментальні дослідження, підготовлено матеріал до друку).

2. Дякова О.В. Порівняльна оцінка впливу вінборону та пентоксифіліну на метаболізм головного мозку та серця в умовах гострої гіпоксичної гіпоксії // Вісник Вінницького національного медичного університету.- 2003.- Т.1, №1.- С. 15-17.

3. Дякова О.В., Мудрицький В.Б., Степанюк Г.І., Сулим О.Г. Фармакокінетика вінборону при гострій експериментальній гіпоксії // Вісник Вінницького національного медичного університету.- 2003.- Т.2, №2.- С. 645-647 (Дисертантом особисто проведено експеримент, статистичну обробку результатів та їх оцінку, підготовлено статтю до друку).

4. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Рауцкієне В.Т. Гістоструктурні зміни внутрішніх органів щурів в умовах тренування хронічною гіпоксичною гіпоксією з гіперкапнією та їх корекція вінбороном // Вісник морфології.- 2004.- №10/1.- С. 126-129 (Дисертантом особисто проведено експеримент, інтерпритацію даних, підготовлено матеріал до друку).

5. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Коньков Д.Г., Паршиков О.В. Вивчення ендотелійзалежних механізмів вазоділататорної активності вінборону in vitro // Досягнення біології та медицини.- 2005.- №2(6).- С. 4-8. (Дисертантом особисто проведено експеримент, інтерпритацію даних, підготовлено матеріал до друку).

6. Деклараційний патент на винахід 69111 А, Україна, А61К31/135. Спосіб лікування експериментального гострого порушення мозкового кровотоку / Степанюк Г.І., Дякова О.В., Волощук Н.І., Сергеєв С.В. № 20031211052; Заявл. 5.12.2003 Опубл. 16.08.2004. Бюл.№8 (Дисертантом самостійно здійснено патентний пошук, розроблено схему експерименту, проведено експериментальні дослідження, підготовлено матеріал до друку)

7. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Степанюк А.Г. Фармакопрофілактика вінбороном порушень оксидантно - антиоксидантної рівноваги в мозку та серці щурів при гострій гіпоксичній гіпоксії // Мат. міжнародного симпозіуму “Актуальні питання сучасної медичної допомоги населенню”.- Чернівці.- 2003.- С. 103-106.

8. Дякова О.В., Иванова Н.И. Влияние винборона и трентала на метаболизм головного мозга и сердца крыс при острой гипоксической гипоксии // Мат. научно-практической конференции «Медицина будущего».- Краснодар - Сочи.- 2002.- С.60.

9. Дякова О.В., Мудрицький В.Б., Сулим О.Г. Фармакокінетика вінборону при експериментальній гіпоксії // Мат. міжнародної науково-практичної конференції «Клінічна фармація: 10 років в Україні».- Харків.- 2003.- С. 87;

10. Шеремета Р.О., Дякова О.В., Кирничний А.І. Порівняльна оцінка церебропротекторної дії кавінтону, вінборону, пірацетаму, пентоксифіліну,

емоксипіну та натрію оксибутирату // IV Українська міжнародна науково-практична конференція з клінічної фармакології.- Вінниця, 2004.-С. 166-167.

11. Дякова О.В., Степанюк Н.Г. Ефективність вінборону при гіпоксичних та ішемічних станах в експерименті // Мат. до наукової конференції студентів та молодих вчених.- Вінниця.- 2004.- С. 310.

12. Дякова О.В. Фармакопрофілактична ефективність вінборону на моделі гіпоксії замкнутого простору // Мат. X–ій наукової університетської (XXXX-ій вузівської) науково-практичної конференції молодих учених та фахівців.- Вінниця, 2004.- С. 66.

АНОТАЦІЯ

Дякова О.В. Профілактична ефективність вінборону при гіпоксичних станах (експериментальне дослідження). Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за фахом – 14.03.05. - фармакологія. - Інститут фармакології та токсикології АМН України, Київ, 2005.

На лабораторних тваринах вивчали фармакопрофілактичну ефективність вінборону на моделях гострої та хронічної Г. Встановлено, що вінборон, подібно до пентоксифіліну, справляє виразну протигіпоксичну дію на щурів та мишей в умовах гострих ГС. Це проявляється подовженням життя тварин, зниженням показника летальності та покращанням клінічної картини протікання ГС. Профілактичне одноразове введення вінборону білим мишам та щурам в оптимальних дозах (8 та 16 мг/кг в/о) на моделях Г замкнутого простору та гострої гіпобаричної Г підвищувало тривалість життя тварин на 58 та 104% відповідно ($p \leq 0,5$). За показником антигіпоксичної активності ($ЕД_{50}$) при Г замкнутого простору вінборон майже в 17 разів перевершує пентоксифілін. В умовах ХГГ з гіперкапнією профілактична дія вінборону проявляється підвищенням толерантності до фізичного навантаження, відновленням електричної стабільності міокарду, послаблюються розлади кровообігу, дистрофічні, проліферативні та склеротичні процеси в легенях, серці, печінці, нирках та наднирниках щурів. При цьому за рівнем профілактичної ефективності вінборон переважав пентоксифілін.

Протигіпоксична дія вінборону при ГС реалізується за рахунок нормалізації біоенергетичних процесів та відновлення показників АОС. Водночас, протигіпоксична дія вінборону пов'язана з наявністю судиннорозширюючого ефекту. Вазодилататорна дія вінборону проявляється також зростанням редукованого мозкового кровотоку в умовах тромбоемболії. При цьому вінборон активує метаболічні процеси в головному мозку. Сукупність вказаних фармакологічних властивостей вінборону ймовірно

забезпечує достатньо високу антигіпоксичну дію вінборону на моделях гострих та хронічних ГС.

Ключові слова: гіпоксія, вінборон, пентоксифілін

АННОТАЦИЯ

Дякова О.В. Профилактическая эффективность винборона при гипоксических состояниях (экспериментальное исследование). Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности –14.03.05- фармакология. - Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины, Киев, 2005.

Диссертация посвящена профилактической эффективности винборона при острых и хронических гипоксических состояниях.

На разных моделях ГС (Г замкнутого пространства, циркуляторной Г, острой гипобарической Г) показано, что винборон проявляет достаточно высокую эффективность при профилактическом введении в организм. На это указывало удлинение времени жизни, снижение летальности животных и улучшение клинической картины течения Г. Профилактическое введение винборона (6,6 мг/кг внутрибрюшинно) наркотизированным и ненаркотизированным крысам с циркуляторной Г (двусторонняя перевязка сонных артерий) полностью предотвращало гибель животных в критический период эксперимента (гибель больше 50% животных соответственно на 6 и 1 часе исследования). При разработке оптимального режима дозирования винборона установлено, что наиболее высокую фармакопрофилактическую эффективность винборон проявляет в дозе 8 мг/кг за 1 час до моделирования патологии. При этом среднеэффективная доза для человека составляет 1,26 мг/кг.

В основе профилактического действия винборона в условиях Г лежит его способность нормализовать биоэнергетические процессы в сердце и мозге крыс, снижать интенсивность процессов ПОЛ и повышать активность АОС организма. Важную роль в профилактическом действии винборона играют такие его свойства как стимулирующее влияние на микрогемоциркуляцию (за счет антиагрегантного эффекта), способность усиливать метаболические и репаративные процессы, а также вазодилатирующий эффект. Важно отметить, что по величине профилактического действия винборон сопоставим с пентоксифиллином.

Ключевые слова: гипоксия, винборон, пентоксифиллин.

SUMMARY

Dyakova O.V. – Prophylactic effectiveness of vinboron effects at hypoxic states (experimental study). - Manuscript.

Thesis for obtaining the scientific degree of Candidate of medical sciences in speciality 14.03.05 – Pharmacology.- Institute of Pharmacology and Toxycology AMS of Ukrain, Kyiv, 2005.

The dissertation deals with vinboron prophylactic effectiveness at acute and chronic hypoxic states.

Vinboron synthetized at the scientific production center of Borshshagovsky chemical pharmaceutical plant is a new home spasmolytic drug with polytropic pharmacological properties such as spasmolytic, analgetic, antiaggregation, antiischemic, antihypoxic, antioxydant, antiinflammatory, antiarrhythmic, immunomodulating ones. Vinboron has the ability to stimulate coronary and cerebral blood flow and reparation processes.

Prophylactic effectiveness of vinboron has been studied on the experimental animals on the models of acute and chronic hypoxia. It has been determined that vinboron similar to pentoxifylline produced significant antihypoxic effect on rats and mice in the condition of acute hypoxia. It resulted in length of life and improvment of the course of clinical picture. As to the indices of ED_{50} vinboron is 17 times higher than that of pentoxifylline. In the condition of circulatory hypoxia in the anesthetized and nonanesthetized rats vinboron (6,6 mg/kg) completely prevented the death of the experimental animals in a critical period (the death of more than a half of the animals during the sixth and the first hour of the experiment). In the state of chronic hypoxic hypoxia with hyperkapnia the prophylactic effects of vinboron manifests itself in increase of tolerance to physical exercises and recovery of electrical myocardial stability. Histological study of lungs, heart, kidneys, liver and adrenal glands demonstrated pronounced prophylactic effect of vinboron. Prophylactic injection of pentoxifylline improved the blood flow and corrected adaptation processes in myocardium, kidneys and adrenal glands but caused pronounced plethora in lungs with the development of multiple hemorrhages and hemosiderosis that may result in paradoxical effect that is increased hypoxia in this organ. In comparison with pentoxifylline vinboron does not cause sclerotic changes of internal organs and the destruction of hemodynamics which were observed under the action of pentoxifylline. Vinboron caused the increasing adaptation ability of organism to chronic hypoxic hypoxia with hyperkapnia. In this ability vinboron is preferable to pentoxifylline.

Antihypoxic effect of vinboron is realized first of all to the account of normalization of bioenergetic processes and recovery of oxydative-antioxydative balance in vital organs of rats. Preliminary injection of vinboron prevents from exaustion of adenine nucleotide reserves in the brain and heart. Adenosine triphosphoric acid and kreatine-phosphate is increased in comperison with the control animals. Vinboron as well as pentoxifylline prevents from matabolic acidosis in the

heart and brain of rats. Under the influence of vinboron there was a pronounced decrease of hydroperoxides content and malonic dialdegide in the heart and brain on the background of increase of superoxide dismutase and catalase in the myocardium with the decrease of its indices in the brain.

At the same time antihypoxic effect of vinboron is due to the presence of vasodilatative effect in rats. Under the conditions in vitro the drug (10^{-4} - 10^{-8} M) causes stable dose-depended relaxation of shortened by mesaton aorta rings, vasodilatation activity of vinboron being higher in the presence of endothelium than in deendotheliolized vessels. Vasodilatation action of vinboron is shown by the increase of the reduced level of cerebral blood flow in the anesthetized rats. Injection of vinboron unlike cavinton prevented the decrease of arterial pressure on the background of acute thromboembolism. At the examination of arterio-venous difference in cat's blood it was determined that ammonia content reliably decreases with the increase of glucose level up to that of intact animals.

Key words: hypoxia, vinboron, pentoxifylline

АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ

ДЯКОВА Оксана Василівна

УДК: 615 - 084:615.015: 616.152. 21. 001. 5

ПРОФІЛАКТИЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВІНБОРОНУ ПРИ ГІПОКСИЧНИХ СТАНАХ (експериментальне дослідження)

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Київ-2005

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор **СТЕПАНЮК Георгій Іванович**, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України, завідувач кафедри фармакології.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор **СОЛОВЙОВ Анатолій Іванович,** Інститут фармакології та токсикології АМН України, головний науковий співробітник відділу експериментальної терапії.

доктор медичних наук, професор **ЛУК'ЯНЧУК Віктор Дмитрович**, Луганський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри фармакології.

Провідна установа: Одеський державний медичний університет, кафедра загальної та клінічної фармакології МОЗ України, м. Одеса.

Захист дисертації відбудеться “____” _____2005 р. о ____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при Інституті фармакології та токсикології АМН України за адресою: 03057, Київ, вул. Е. Патьє, 14.

З дисертацію можна ознайомитись в бібліотеці Інституту фармакології та токсикології АМН України за адресою: 03057, Київ, вул. Е. Патьє, 14.

Автореферат розісланий “___”_____2005р.

Вчений секретар
спеціалізованї вченої ради Д 26.550.01
кандидат біологічних наук **Данова І.В.**

Підписано до друку 26.10.2005 р. Замовл. № 345.
Формат 60х90 1/16 Ум. друк. арк. 0,9 Друк офсетний.
Наклад 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М.І. Пирогова, Пирогова, 56.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Гіпоксія (Г) – один з найбільш поширених процесів, який становить основу багатьох захворювань або супроводжує їх (Л.Д. Лукьянова, 1990; С.А. Сергееева, 1991; В.С. Лаврова, 1994; Г.Г. Жданов, 1995; В.Д. Лукьянчук, 1998; А.В. Смирнов, 1998). Особливе місце серед станів Г посідає ішемія різних органів - серця, мозку, легень та ін. (Т.Ю. Макаревич, 1997). Значну актуальність в наш час набули ішемічна хвороба серця та судинна патологія головного мозку, які стали одними з основних причин інвалідизації та смерті людини (М.Б. Маньковский, 1996; О.Ф. Возіанов, 1996; Т.Ю. Макаревич, 1997). Тому антигіпоксичні препарати займають чільне місце в системі патогенетичного лікування гіпоксичних та ішемічних станів.

Незалежно від виду Г в основі характерних для неї розладів лежать енергодефіцит та активація вільнорадикальних процесів (Л.Д. Лукьянова, 1991), тому логічно, що одним з ефективних шляхів захисту від нестачі кисню є застосування антигіпоксантів (Аг), які повинні, в першу чергу, забезпечити корекцію енергетичного обміну і стабілізацію клітинних та субклітинних мембран. Для профілактики та лікування гіпоксичного синдрому (ГС) використовуються як специфічні: гутимін, амтизол, емоксипін, цитохром С, пірацетам, натрію оксибутират та ін.), так і неспецифічні: барбітурати, нейролептики та вазодилататори (пентоксифілін, но-шпа), адрено – та симпатоміметики, антиоксиданти, блокатори кальцієвих каналів, інгібітори циклооксигеназ, стабілізатори мембран та ін. Аг. Незважаючи на великий арсенал Аг проблема фармакокорекції порушень, які розвиваються при ГС, ще не вирішена. Це пов'язано з незавжди достатньою ефективністю препаратів даної групи, наявністю у них побічних ефектів (у пентоксифіліну – зниження артеріального тиску, алергічні реакції, набряки; натрію оксибутирату - блювота, порушення дихання; емоксипіну – помірне підвищення артеріального тиску, збудження або сонливість, висипки на шкірі; пірацетаму – роздратованість, диспепсичні явища, головна біль, порушення сну, загострення ішемії серця), які обмежують їх використання (М.Д. Машковский, 2002). Тому пошук та розробка нових високоефективних та безпечних Аг є нагальною задачею.

В останні роки в науковій літературі все частіше наголошується про перспективність використання в клінічній практиці лікарських препаратів з політропними фармакологічними властивостями, що може забезпечити необхідний рівень функціонування органів та систем (А.А. Абдуллаев и соавт., 1994; С.Г. Бурчинський, 2001; В.И. Погорелов и соавт., 2001; А.М. Демченко, 2001; В.Ф. Шенгур, 2001; О.І. Волошин та співавт., 2003). Цінність таких лікарських засобів полягає, в першу чергу, в тому, що вони дають змогу

усунути поліпрагмазію, при якій не виключена взаємодія ліків з виникненням ускладень (И.С. Чекман, 1980; Я.Я. Балткайс, В.А. Фатеев, 1991).

До числа препаратів з політропними властивостями відноситься вітчизняний спазмолітик вінборон (ресинтезований на НВЦ „Борщагівський ХФЗ" фенікаберан) (Л.В. Беспалько і співавт., 1998). Вінборону притаманний широкий спектр фармакологічних властивостей – знеболююча, антиоксидантна, протиішемічна, антиагрегантна, протизапальна, протиаритмічна, імуномодулююча, здатність стимулювати мікроциркуляторні та репаративні процеси (Н.Г. Степанюк, 2000; Г.І. Степанюк і співавт., 2002, С.В. Сергеєв, 2002, О.С. Пашинська, 2004), що свідчить про перспективність його вивчення в якості Аг.

Протигіпоксичні властивості вінборону раніше не досліджувались, що і стало підставою для проведення цієї роботи.

Зв'язок роботи з науковиим програмами, планами, темами. Робота виконана в рамках Держбюджетної наукової роботи Вінницького національного медуніверситету ім. М.І. Пирогова (ВНМУ) по темі: «Експериментальне обгрунтування доцільності застосування бензофурокаїну, вінборону та тіотріазоліну як лікарських засобів з політропними фармакологічними властивостями при гострих та хронічних запальних процесах» (№ Державної реєстрації 0199U004043).

Мета і задачі дослідження. Мета - експериментально обгрунтувати доцільність застосування вінборону для профілактики порушень, які виникають при Г та дослідити механізми його дії.

Для досягнення мети були поставлені наступні **задачі**:

4. Встановити антигіпоксичні властивості вінборону на моделях гострих ГС (гострої гіпобаричної Г, Г замкнутого простору, циркуляторної Г та гемічної Г) та порівняти їх з Аг різних фармакологічних груп (ноотропи, неінгаляційні наркозні засоби, засоби, що покращують мозковий кровообіг, Аг).

2. Розробити оптимальний дозовий режим застосування вінборону в умовах Г замкнутого простору з екстраполяцією на людину.

3. Дослідити фармакокінетику вінборону при пероральному введенні в організм на моделі експериментальної гострої гіпоксичної гіпоксії (ГГГ).

4. Встановити фармакопрофілактичну ефективність вінборону в умовах хронічної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією (ХГГ з гіперкапнією).

5. Дослідити механізми протигіпоксичної дії вінборону.

6. Обгрунтувати доцільність застосування вінборону в якості засобу для профілактики порушень гіпоксичного генезу.

Об'єкт дослідження – патологічні зміни, що виникають в організмі при ГС.

Предмет дослідження – антигіпоксичні властивості вінборону.

Методи дослідження. В роботі використані фармакологічні, патофізіологічні, фармакокінетичні, біохімічні, морфологічні, математичні та статистичні методи.

Наукова новизна отриманих результатів.

У роботі вперше теоретично обгрунтована та експериментально доведена на різних моделях Г доцільність застосування вінборону, як лікарського засобу з політропними фармакологічними властивостями, для профілактики порушень, що виникають при ГС. Встановлено, що за величиною антигіпоксичної активності ($ЕД_{50}$) вінборон майже в 17 разів перевершує пентоксифілін, співставляючись з емоксипіном на моделі Г замкнутого простору. Вперше доведено, що профілактична дія вінборону в умовах ХГГ з гіперкапнією проявляється зростанням фізичної витривалості, відновленням електричної стабільності міокарду, попередженням дистрофічних та проліферативних процесів у внутрішніх органах дослідних тварин. За фармакопрофілактичною ефективністю вінборон перевершує пентоксифілін. Механізм протигіпоксичної дії вінборону пов'язаний з вазодилататорним ефектом, спроможністю стимулювати мозковий кровотік та метаболічні процеси в життєво важливих органах (ЖВО), гальмівним впливом на процеси перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) на тлі зростання активності антиоксидантної системи (АОС).

Практичне значення одержаних результатів.

Експериментально обгрунтована доцільність застосування вінборону як лікарського засобу з політропними фармакологічними ефектами для профілактики порушень гіпоксичного генезу. Розроблено оптимальний режим дозування вінборону з екстраполяцією на людину в умовах гіпоксичних станів. Результати проведеного дослідження впроваджено в педагогічний процес кафедри фармакології та патологічної фізіології ВНМУ, кафедр фармакології Луганського, Тернопільського, Запорізького, Буковинського державних медичних університетів та Львівського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно проведено інформаційний пошук, аналіз наукової літератури за темою дисертації, визначені задачі і мета дослідження, опрацьовані моделі, згідно з якими особисто виконано експериментальні дослідження, здійснено статистичну обробку отриманих даних та оформлення їх у вигляді таблиць і рисунків, проаналізовано результати досліджень, сформульовано основні положення та висновки роботи. Гістологічні дослідження автором проведені при консультативній допомозі доцента кафедри патологічної анатомії ВНМУ В.Т.

Рауцкієне та завідувача кафедри гістології ВНМУ проф. М.С. Пушкаря; біохімічні дослідження виконані на базі лабораторії кафедри загальної та біологічної хімії ВНМУ (зав. проф. О.О. Пентюк).

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи доповідались на науково - практичній конференції «Медицина будущего» (Краснодар – Сочи, 2002); міжнародній науково-практичній конференції «Клінічна фармація: 10 років в Україні» (Харків, 2003), міжнародному симпозіумі «Актуальні питання сучасної медичної допомоги населенню» (Чернівці, 2003); науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (Вінниця, 2004); XI Російському національному конгресі «Человек и лекарство» (Москва, 2004); X-ій науковій університетській (XXXX-ій вузівській) науково-практичній конференції молодих учених та фахівців (Вінниця, 2004), IV Українській міжнародній науково - практичній конференції з клінічної фармакології (Вінниця, 2004), на розширеному засіданні наукових товариств фармакологів, патофізіологів, біохіміків та морфологів ВНМУ ім. М.І. Пирогова 23.11.2004.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 12 наукових робіт, з них 6 статей в фахових журналах ВАК України та 6 тез у збірниках праць з'їздів і конференцій.

Структура та об'єм дисертації. Матеріали дисертації викладені на 140 сторінках рукопису і складаються із вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали і методи дослідження», п'ятьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел. Покажчик літератури містить 379 вітчизняних та 77 зарубіжних джерел. Робота ілюстрована 15 таблицями та 28 рисунками, з яких 23 мікрофотографії.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали, моделі і методи дослідження. Експерименти проведено на 692 нелінійних білих щурах обох статей масою 130 – 400 г, 23 кішках обох статей масою 3,5 - 5 кг та 70 білих мишах масою 17-32 г. Всі тварини утримувались у віварії ВНМУ на стандартному водно-харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі. Тварини отримували стандартне харчування у вигляді збалансованого гранульованого корму за встановленими нормами. Дослідження проводили в лабораторії кафедри фармакології ВНМУ ім. М.І. Пирогова, сертифікованої Державним фармакологічним центром МОЗ України (посвідчення №51 від 30. 05. 2002) з врахуванням методичних рекомендацій

ДФЦ МОЗ України “Доклінічні дослідження лікарських засобів” (О.В. Стефанов, 2001).

В дослідах використовували ін’єкційну лікарську форму вінборону у вигляді ліофілізованого порошку по 0,01 в ампулах (НВЦ “Борщагівський ХФЗ”). Протигіпоксичну дію вінборону порівнювали з відомими Аг: розчини натрію оксибутирату 20% (Ризький ФЗ, Латвія), емоксипіну 1% (“Белмедпрепарат”, Росія), пентоксифіліну 2% (Дарниця, Україна), пірацетаму 20% (Дарниця, Україна), кавінтону (Gedeon Richter, Угорщина).

Г замкнутого простору моделювали шляхом розміщення щурів у ізольовані гермооб'єми (V=0,001 м^3). Спостереження за тваринами проводили до моменту їхньої загибелі з наступним розрахуванням коефіцієнту захисту - Кз (В.Д. Лук'янчук і співавт., 2002). Антигіпоксичну активність вінборону, емоксипіну та пентоксифіліну оцінювали за показником $ЕД_{50}$ (середньоефективна доза препарату, яка сприяла збільшенню тривалості життя експериментальних тварин на 50% по відношенню до контрольної групи), яку розраховували графічно за методом Литчфілда-Уілкоксона (М.Л. Беленький, 1963). Досліджувані препарати вводили одноразово внутрішньоочеревинно (в/о) за 1 год до початку моделювання Г в дозах: вінборон - 2,3 - 18,5% від $ЛД_{50}$; емоксипін – 2,5 - 20 мг/кг, пентоксифілін – 50,0 - 200,0 мг/кг маси тіла щурів, в терапевтично ефективних дозах, запозичених з літератури (В.В. Юшкова, 1999; В.Е. Погорелый, 1999; І.П. Бєлоусова, 2000; О.А. Коробков, 2002). Ефективність препаратів оцінювали за показником середньої тривалості життя, а також за перебігом клінічної картини.

Циркуляторну Г (ішемію) мозку відтворювали на наркотизованих (тіопентал – натрій 70 мг/кг в/о) щурах шляхом оклюзії обох загальних сонних артерій. Вінборон, натрію оксибутират, пірацетам, емоксипін, пентоксифілін вводили одноразово за 1 год в/о до створення гострого порушення мозкового кровооообігу (ГПМК). Фармакопрофілактичну ефективність досліджуваних препаратів на даній моделі Г оцінювали за динамікою показника летальності щурів, а також клінічними симптомами перебігу ГПМК (В.Д. Лук'янчук та співавт., 2002). Циркуляторну Г (ішемію) мозку моделювали шляхом підведення лігатури під судини під каліпсоловим наркозом (50 мг/кг в/о) за 24 год до моделювання патологічного стану. Препарати вводили одноразово в/о за 60 хв до моделювання ГПМК: вінборон в дозі 6,6 мг/кг (доза, що становить $ЕД_{50}$ при Г замкнутого простору), для референс – препаратів взято оптимальні терапевтично ефективні дози, запозичені з літератури: емоксипін 10 мг/кг, пірацетам 250 мг/кг, пентоксифілін 110 мг/кг, натрію оксибутират 300 та 500 мг/кг (Н.А. Сысолятина, 1998; В.В. Юшкова, 1999; І.П. Бєлоусова, 2000; В.Д. Лук'янчук та співавт., 2002; О.Ю. Бибик, 2002; О.В. Дякова, 2003).

Ефективність досліджуваних лікарських засобів оцінювали за динамікою показника летальності та клінічною картиною перебігу Г.

Стан метаболічних процесів в мозку та серці вивчали на моделі ГГГ у щурів, яку створювали шляхом «підйому» тварин в барокамері на висоту 8000 м над рівнем моря зі швидкістю 50 м/с, експозиція тривала 30 хв. Вінборон (6,6 мг/кг в/ш) та пентоксифілін (116 мг/кг в/ш) вводили з профілактичною метою за 60 хв до початку моделювання ГС в дозах, що дорівнюють їх $ЕД_{50}$ (І.П. Белоусова, 2000; О.В. Дякова, 2003).

Гостру гіпобаричну Г у мишей відтворювали шляхом «підйому» тварин на висоту 8000 м за допомогою спеціальної установки. Піддослідних тварин витримували на даній висоті до загибелі (В.Г. Личко, 2000). Вінборон в дозі 4 - 32 мг/кг; пентоксифілін 50 - 200 мг/кг; пірацетам 100 - 750 мг/кг; емоксипін 5 - 20 мг/кг та натрію оксибутират 50 - 150 мг/кг вводили одноразово в/о за 1 год до моделювання патології (І.П. Бєлоусова, 2000; Р.А. Ахундов, 2001; О.А. Коробков, 2002; О.Ю. Бибик, 2002; Т.А. Скочко-Волкова, 2002).

Гостру гемічну Г моделювали шляхом введення натрію нітриту підшкірно в дозі 120 мг/кг (Н.Ф. Иваницкая, 1975). Вінборон вводили в дозі 6,6 мг/кг та пентоксифілін в дозі 110 мг/кг в/о за 60 хв до введення метгемоглобіноутворювача (І.П. Белоусова, 2000; О.В. Дякова, 2003). Ефективність препаратів оцінювали за зміною часу життя тварин (В.Д. Лук'янчук та співавт., 2002).

ХГГ з гіперкапнією моделювали шляхом «підйому» тварин в барокамері ($V = 0{,}324$ $м^3$) на висоту 8000 м над рівнем моря зі швидкістю 50 м/с. Експозиція тривала 5 год щоденно на протязі 5 тижнів (Ф.З. Меерсон, 1981). Рівень двоокису вуглецю (CO_2) визначали фотометричним методом. Концентрацію CO_2 (об%) знаходили за калібрувальним графіком (М.Д. Манита, Р.М. Салихджанова, 1980). Вінборон та пентоксифілін вводили в дозах, що дорівнюють їх $ЕД_{50}$, - 6,6 та 100 мг/кг відповідно, з профілактичною метою щоденно внутрішньошлунково (в/ш) за 60 хв до «підйому» тварин в барокамері (І.П. Бєлоусова., 2000; О.В. Дякова, 2003). Електричну стабільність міокарду щурів в умовах ХГГ з гіперкапнією оцінювали за допомогою електростимулятора ЕС – 50-1, який дозволяє наносити “пачку” із 99 тестуючих імпульсів необхідної тривалості в найбільш вразливий період серцевого циклу, який реєстрували на електрокардіографі “Малиш” в другому стандартному відведенні (В.А. Люсов, Н.И. Савчук, 1991; K. Torfgard, J. Althner, 1994). Рівень фізичної виносливості оцінювали за допомогою плавальної проби: враховували тривалість плавання (в с) кожної тварини до повного стомлення (занурювання) у воді з температурою 37^0С з вантажем, що складав 15% маси тіла (Б.Г. Исаев, 1988; А.В. Цибанев, 1991). Дослідження морфологічної структури серця,

легенів, печінки, нирок та наднирників в умовах ХГГ з гіперкапнією проводили після забарвлення гістологічних зрізів гематоксилін-еозином з використанням світлової мікроскопії (Е. Пирс, 1962).

При розробці дозового режиму в умовах гострої Г вінборон вводили в/о з профілактичною метою за 1 та за 2 год до початку моделювання ГС в дозах: 2,0; 4,0; 8,0; 16,0 та 32,0 мг/кг (2,3; 4,6; 9,3; 18,5 та 37% від $ЛД_{50}$). Екстраполяцію доз вінборону на людину проводили за константами біологічної активності (Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев, 1979).

Фармакокінетику вінборону вивчали на інтактних щурах та щурах з моделлю ГГГ. Вінборон вводили одноразово в/ш натще за 15 хв до моделювання Г в дозі 100 мг/кг (близько 12% від $ЛД_{50}$) у вигляді 2% водного розчину. Кров для досліджень брали в обох групах (одночасно у 3-4 тварин) через 15, 30, 60, 120, 240, 360 та 480 хв після введення препарату. Вміст вінборону в плазмі крові (мкг/мл) визначали за методом Р.А. Мусіна та співавт. (2002) з використанням калібрувального графіка.

Вміст аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ), лактату та пірувату в гомогенатах мозку та серця щурів в умовах ГГГ проводили за загальноприйнятими методиками (М.И. Прохорова, 1982). Вміст креатинфосфату (КФ) визначали за методом P. Ergliton et al. (1954) на спектрофотометрі при довжині хвилі 525 нм. Концентрацію глікогену та глюкози визначали методом, описаним В.В. Меньшиковим (1987). Стан ПОЛ оцінювали за вмістом гідроперекисів ліпідів (ГП) (А.А. Романів, І.Д. Стальна, 1988) та малонового диальдегіду (МДА) (І.Д. Стальна, Г.Г. Гаришвілі, 1977), стан АОС - за активністю каталази (М.А. Королюк и соавт., 1988) та супероксиддисмутази (СОД) (В.А. Костюк з співавт., 1990).

ГПМК моделювали у щурів та кішок під нембуталовим наркозом (40 мг/кг в/о) шляхом введення у внутрішню сонну артерію 0,2% завісі лікоподію в крохмальному клейстері (А. Фохт, 1920). Рівень мозкового кровотоку у щурів визначали за допомогою флоуметра Transonic® Animal Research Flowmeters T 106 Series. Периваскулярний датчик, надягнутий на внутрішню сонну артерію, фіксував об'ємну швидкість кровотоку (мл/хв). Результати моніторингу були зафіксовані на жорсткому диску комп'ютера у вигляді графічних даних. Паралельно у кішок з ГПМК визначали динаміку артеріального тиску (АТ) в стегновій артерії (за допомогою датчика Transpac® Pressure Transducer), а також проводили забір крові для визначення артеріо - венозної різниці (АВР) вмісту аміаку та глюкози. Концентрацію глюкози в крові визначали стандартним ортотолуїдиновим методом, аміаку - методом ізотермічної перегонки з наступною реакцією його з реактивом Несслера (В.В. Меньшиков, 1987)

Вивчення вазоділататорної активності вінборону in vitro проведено на кільцевих фрагментах аорти, ізольованих у щурів - самців лінії Вістар. Силу скоротливих реакцій кілець аорти реєстрували в ізометричному режимі. В окремій серії дослідів ділататорні реакції скорочення гладеньких м'язів аорти досліджували на деендотелізованих фрагментах судин, що підтверджувалося повною відсутністю ділататорних відповідей на АХ (В.П. Реутов и соавт., 1997, S.W. Ballinger et al., 2000).

Усі використані одиниці виміру і параметри наведені відповідно до МСО (Г. Ліперт, 1980). Комп'ютерну обробку числового матеріалу проводили із використанням програмного пакета Origin 7.5 (OriginLab Co., USA), EXEL 5.0. При нульовому та 100% значенні показників використовували метод Р.Б. Стрелкова (1998). Зміни вважали статистично вірогідними при $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Дослідження протигіпоксичних властивостей вінборону на різних моделях гіпоксії.

На різних за генезом моделях Г встановлено, що превентивне в/о введення щурам та мишам вінборону, подібно до референс - препаратів, справляло виразну антигіпоксичну дію, що проявлялось подовженням тривалості життя, зниженням показника летальності та покращанням клінічної картини.

На моделі Г замкнутого простору захисна дія вінборону, як і емоксипіну та пентоксифіліну, була дозозалежною (табл.1).

Таблиця 1.

Протигіпоксична ефективність вінборону в порівнянні з іншими ангигіпоксантами (M ± m, n = 7).

Умови досліду	Доза, мг/кг	Середня тривалість життя, хв	Ефектив-ність профілак-тики,%	Кз	ЕД50, мг/кг
Гіпоксія (контроль)	-	41,8 ± 1,21	-	-	-
Вінборон	2,0	49,3 ± 0,96*	+17,9	1,18 ± 1,05	

+ гіпоксія	4,0	56,0 ± 1,42*	+34,0	1,34 ± 1,27	6,6 (2,64÷16,5)
	8,0	66,04 ± 1,84*	+58,0▼	1,58 ± 1,5	
	16,0	56,85 ± 1,51*	+36,0	1,36 ±1,31	
Емоксипін + гіпоксія	2,5	47,65 ± 0,65*	+14,0	1,14 ± 0,93	10,0 (4,25÷23,5)
	5,0	52,67 ± 0,84*	+26,0	1,26 ± 1,0	
	10,0	62,85 ± 0,99*	+51,0▼	1,50 ± 1,06	
	20,0	59,36 ± 1,00*	+42,0	1,42 ± 1,07	
Пентокси-філін + гіпоксія	50,0	52,0 ± 1,03*	+24,4	1,24 ± 1,08	110,0 (73,3÷165)
	100,0	61,4 ± 1,10*	+46,0	1,47 ± 1,11	
	150,0	57,6 ± 1,57*	+37,0	1,38 ± 1,35	
	200	46,39 ± 0,87*	+11,0	1,11 ± 1,01	

Примітка. * - $p \leq 0,05$ відносно контролю.

▼ – $P<0,025$ відносно контролю (розраховано за допомогою точного методу Фішера для чотирьохпільної таблиці)

Найбільшу захисну дію вінборон проявив в дозі 8 мг/кг: середня тривалість життя тварин збільшилась на 58% відносно контролю. Кз становив 1,58 проти 1,5 та 1,47 відповідно для емоксипіну та пентоксифіліну, взятих в оптимальних антигіпоксичних дозах, тобто за величиною Кз вінборон практично співставлявся з референс-препаратами. При цьому за ступенем антигіпоксичної активності (за показником $ЕД_{50}$) вінборон майже в 17 разів переважав пентоксифілін, співставляючись з емоксипіном.

Протигіпоксична дія вінборону чітко проявилась і на моделі циркуляторної Г (ішемії) мозку у наркотизованих щурів (табл. 2).

При цьому за величиною захисної дії в критичний період експерименту (в перші 6 год експерименту) вінборон переважав емоксипін, співставляючись з пірацетамом, натрію оксибутиратом та пентоксифіліном. На 36 год дослідження, коли в контролі показник летальності становив 100%, за ступенем профілактичної дії вінборон практично не відрізнявся від препаратів порівняння.

Таблиця 2.

Вплив вінборону, натрію оксибутирату, емоксипіну, пентоксифіліну та пірацетаму на летальність (%) наркотизованих щурів в умовах циркуляторної гіпоксії мозку (n=10)

Групи тварин	Препарат	Доза, Мг/кг	Строки досліджень, год				
			1	6	12	24	36
1	Контроль	-	40	70	80	80	100
2	Вінборон	6,6	0*[1]	0[*1,3]	10[*1,3,5]	40[*1]	70
3	Емоксипін	10	0[*1]	40[*2]	50[*2]	60	80
4	Пірацетам	250	10	10[*1]	20[*1]	40[*1]	70
5	Пентоксифілін	110	10	30	60[*2]	70	80
6	Натрію оксибутират	500	10	20[*1]	30[*1]	60	70

Примітка. * - статистично вірогідний результат при $p \leq 0,05$. Цифра біля * означає номер групи, з якою проводилось порівняння.

Високий ступінь захисної дії вінборону знайшов підтвердження на моделі циркуляторної Г у ненаркотизованих тварин: попереднє введення вінборону (6,6 мг/кг в/о) повністю запобігало летальності тварин в критичний період експерименту (1-ша год), в той час як в контролі загинуло 60% щурів. При цьому за ефективністю вінборон практично співставлявся з пірацетамом, пентоксифіліном, емоксипіном та натрію оксибутиратом в зазначений період досліду: летальність становила відповідно 10, 20, 10 та 20% ($p \leq 0,05$).

Дозозалежна протигіпоксична дія вінборону чітко проявилась і на моделі гострої гіпобаричної Г у мишей (табл. 3). Найбільшу активність досліджуваного препарату виявлено в дозі 16 мг/кг: Кз становив 2,04. В оптимальній протигіпоксичній дозі вінборон практично співставлявся з емоксипіном, пентоксифіліном, натрію оксибутиратом та пірацетамом за величиною Кз, перевершуючи референс-препарати в активності (по $ЕД_{50}$) відповідно в 1,3; 10,3; 18,6 та 40 разів. Ці дані свідчать про більш високу антигіпоксичну активність досліджуваного лікарського засобу.

На моделі гострої гемічної Г фармакопрофілактична дія вінборону, як і пентоксифіліну, не проявилась.

Таблиця 3.

Протигіпоксична дія вінборону на моделі гострої гіпобаричної гіпоксії (M±m, n=10).

Умови досліду	Доза, мг/кг	Середня тривалість життя, хв	Ефективність профілактики, %	Кз	$ЕД_{50}$, мг/кг
Гіпоксія (контроль)	-	2,53 ± 0,41	-	-	-
Вінборон + гіпоксія	4	3,6 ± 0,59	+42	1,42 ± 0,49	5,2 (2,88 ÷ 9,36)
	8	4,21 ± 0,48*	+66▼	1,66 ± 0,43	
	16	5,18 ± 0,54*	+104,7▼	2,04 ± 0,46	
	32	3,49 ± 0,50	+ 38	1,38 ± 0,44	
Пентоксифілін + гіпоксія	50	3,7 ± 0,71	+46	1,46 ± 0,56	97,0 (19,7 ÷ 236,5)
	100	4,07 ± 0,56	+61▼	1,60 ± 0,47	
	125	4,17 ± 0,81	+65▼	1,64 ± 0,62	
	150	4,70 ± 0,65*	+86▼	1,85 ± 0,52	
	200	3,80 ± 0,69	+50▼	1,5 ± 0,55	
Пірацетам + гіпоксія	100	3,18 ± 0,53	+26	1,25 ± 0,46	207,0 (34,5 ÷ 1242,0)
	250	3,99 ±0,66	+58▼	1,57 ± 0,53	
	500	5,11 ± 0,76*	+102▼	2,01 ± 0,59	
	750	4,72 ± 0,53	+86▼	1,86 ± 0,46	
Емоксипін + гіпоксія	5,0	3,76 ± 0,86	+49	1,48 ± 0,65	6,9 (3,63 ÷ 13,11)
	10,0	3,99 ± 1,06	+58▼	1,57 ± 0.77	
	20,0	4,94 ± 0,65*	+95,6▼	1,95 ± 0,52	
Натрію Оксибутират + Гіпоксія	50	3,74 ± 0,72	+48	1,47 ± 0,56	55,0 (12,8÷ 236,5)
	100	4,85 ± 1,06	+92▼	1,91±0,77	
	150	4,55 ± 0,91	+80▼	1,79±0,68	

Примітка. * $p \leq 0,05$ відносно контролю.

▼ – $P<0,025$ відносно контролю (розраховано за допомогою точного методу Фішера для чотирьохпільної таблиці)

Розробка дозового режиму використання вінборону в умовах впливу на організм гіпоксії замкнутого простору. При розробці оптимального режиму дозування вінборону було встановлено, що з усіх випробуваних доз найбільш ефективною виявилася доза 8 мг/кг при одноразовому в/о введенні за 1 год до відтворення ГС: мало місце подовження середньої тривалості життя експериментальних тварин на 58% і покращання перебігу клінічної картини ГС. При цьому, виходячи з функції залежності ефективності препарату від його дози, була обчислена середня ефективна доза препарату ($ЕД_{50}$), яка склала 6,6 мг/кг. Ізоефективна доза вінборону, розрахована за константами біологічної активності (Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев, 1979), для людини склала 1,26 мг/кг.

Дослідження фармакокінетики вінборону при гострій гіпоксичній гіпоксії.

Фармакокінетичні параметри вінборону (100 мг/кг в/ш) у щурів в умовах ГГГ істотно змінюються в порівнянні з інтактними тваринами: на 34% зростає період розподілу препарату в камерах організму ($t_{1/2\alpha}$), в 2,6 рази збільшується об'єм розподілу препарату в центральній камері (V_d). Разом з цим в зазначених умовах спостерігається значне сповільнення виведення вінборону з організму, на що вказує зменшення у 7 разів показника константи елімінації ($К_{el}$), зменшення в 2,6 рази кліренсу (Cl_t), збільшення в 2,6 рази площі під фармакокінетичною кривою (AUC, мкг.хв.мл$^{-1}$) та збільшення в 2,7 рази часу утримання вінборону в плазмі крові щурів (MRT). Отримані дані вказують на те, що гостра Г викликає затримку препарату в організмі та гальмує його елімінацію.

Оцінка фармакопрофілактичної ефективності вінборону в умовах хронічної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією.

Щоденне введення вінборону (6,6 мг/кг в/ш) щурам протягом 35 днів в умовах моделювання ХГГ з гіперкапнією протидіяло порушенню електричної стабільності міокарду. На це вказувало підвищення рівня порогу фібриляції шлуночків серця (ПФШС) на 36 добу майже до рівня інтактних тварин. Ефективність пентоксифіліну (100 мг/кг в/ш) при цьому була значно меншою: ПФШС в зазначений термін виріс лише на 9,4% ($p > 0,05$). В заданих умовах вінборон ефективніше за пентоксифілін посилював фізичну витривалість тварин: вірогідно зростала тривалість плавальної проби відповідно на 107,9% та 58% відносно контролю. Сприятливий вплив вінборону позначився і на мікроструктурі внутрішніх органів щурів. В зазначених умовах вінборон, на відміну від пентоксифіліну, повністю блокував розвиток функціонального виснаження та профілактував виникнення дистрофічних та проліферативних

процесів у легенях, міокарді та наднирниках, покращував в них процеси регенерації.

Вивчення механізмів протигіпоксичної дії вінборону. Для визначення шляхів реалізації антигіпоксичної дії вінборону досліджено його вплив на метаболічні процеси в головному мозку та серці щурів з ГГГ. Встановлено, що профілактичне одноразове введення вінборону (6,6 мг/кг в/ш) щурам з ГГГ, подібно до пентоксифіліну (116 мг/кг в/ш), запобігало виснаженню резервів вмісту макроергів в ЖВО тварин. Рівень АТФ вірогідно зростав відносно контрольних тварин на 31,7% та 43,8%, КФ – на 78,8% та 81,2% відповідно. Превентивне введення вінборону, так само як і пентоксифіліну, сприяло зростанню рівня глюкози в мозку щурів відповідно на 36,7% та 20% ($p \leq 0,05$), практично не впливаючи на її вміст в міокарді (рис.1). Водночас, в умовах ГГГ, вінборон сприяв зростанню вмісту глікогену в міокарді, практично не змінюючи його рівень в мозку, в той час як пентоксифілін викликав вірогідне відновлення вмісту глікогену в ЖВО щурів з ГГГ.

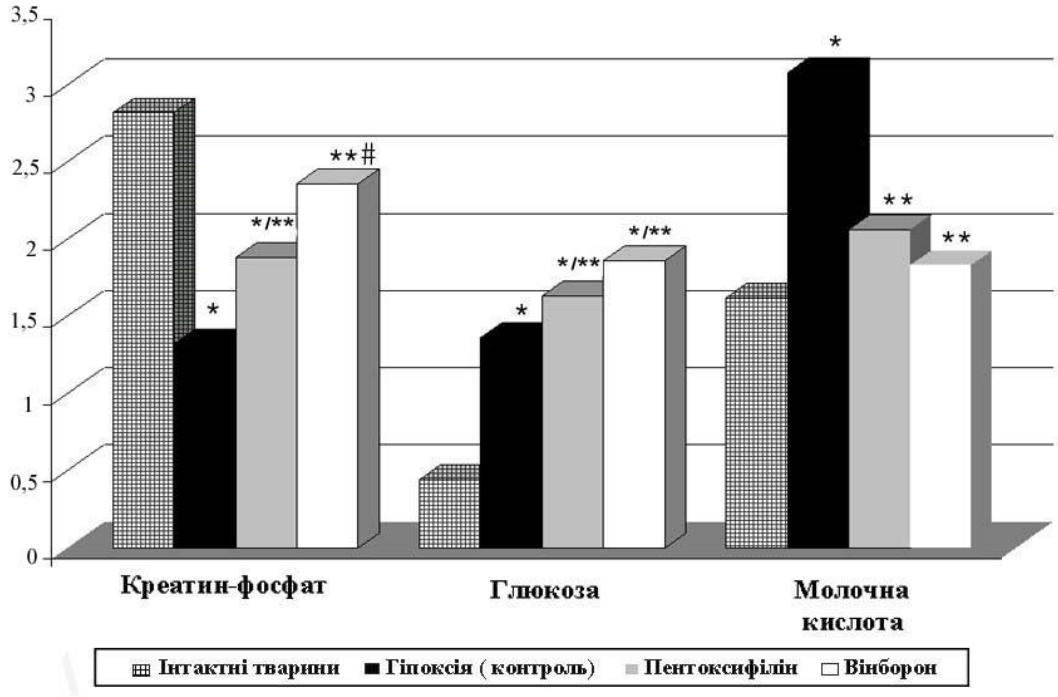

Рис.1. Динаміка КФ, глюкози та молочної кислоти (мкмоль/г) в мозку щурів в умовах ГГГ при профілактичному введенні вінборону та пентоксифіліну.

Примітки: * - $p \leq 0,05$ відносно інтактних щурів; ** - $p \leq 0,05$ відносно контролю; #- $p \leq 0,05$ відносно пентоксифіліну.

Профілактичне введення вінборону, як і пентоксифіліну, профілактувало виникнення цитоплазматичного ацидозу в клітинах головного мозку та серця, про що свідчило зниження рівня молочної кислоти на 40,5% та 41,81% (рис.1) та показника лактат/піруват на 45,02% та 63% відповідно.

Вінборон, подібно до пентоксифіліну, протидіяв зростанню в ЖВО вмісту ГП та МДА на тлі зростання активності ферментів природньої АОС (рис.2).

Рис. 2. Динаміка ГП, МДА, СОД та каталази в мозку щурів в умовах ГГГ при профілактичному введенні вінборону та пентоксифіліну.

Примітки: * - $p \leq 0,05$ відносно інтактних тварин; # - $p \leq 0,05$ відносно контролю.

Профілактичне введення вінборону сприяло зниженню в мозку ГП та МДА на 15,6% та 29,6% відповідно. При цьому спостерігалась активізація СОД в мозку на 33,3% при зниженні каталази в мозку на 32,4% відповідно (рис.2). Аналогічна динаміка зазначених показників оксидантно-антиоксидантної рівноваги на фоні дії вінборону спостерігається і в серцевому м'язі. При цьому за спроможністю відновлювати стан АОС вінборон співставляється з референс-препаратом.

Внутрішньовенне введення кішкам вінборону (3 мг/кг), подібно до кавінтону (5 мг/кг в/в), вірогідно профілактувало зміни кровообігу, редукованого в умовах тромбоемболії: на 20 хв експерименту рівень мозкового кровотоку знизився відносно початкової величини відповідно на 41,8%, 29,5% проти 73,5% у нелікованих тварин. Введення вінборону, на відміну від кавінтону, гальмувало зниження АТ на тлі ГПМК. Здатність препаратів стимулювати об'ємну швидкість мозкового кровотоку супроводжувалось поліпшенням метаболізму в головному мозку, на що вказувала позитивна динаміка АВР за аміаком та глюкозою в крові у кішок з експериментальною тромбоемболією. Таку дію вінборону, як і референс-препарату, можна розцінити як наявність судиннорозширюючого ефекту, що знайшло підтвердження в дослідах in vitro: введення вінборону (10^{-4} - 10^{-8} М) в

омиваючий розчин Кребса викликало стійке та дозозалежне розслаблення скорочених мезатоном кілець аорти, яке тривало зберігалося і після відміни препарату. На кільцях аорти з інтактним ендотелієм спостерігалось повільне та поступове відновлення сили м'язевого скорочення. Розслаблення деендотелізованих фрагментів мало незворотній характер в інтервалі більше 2 год після відміни препарату.

Узагальнюючи результати проведеного дослідження, можна стверджувати, що вінборон, подібно до пентоксифіліну, справляє виразну фармакопрофілактичну дію на тварин на різних моделях ГС. Фармакопрофілактична ефективність вінборону, як і пентоксифіліну, при гострій Г реалізується за рахунок усунення енергодефіциту, спроможності попереджати активацію ПОЛ та стимулювати активність АОС. Важливу роль в антигіпоксичній дії препарату відіграє його стимулюючий вплив на мікрогемоциркуляцію, за рахунок антиагрегантного ефекту та зниження потреби тканин в кисні (Г.И. Степанюк и соавт., 2000). Вінборону притаманна вазодилататорна активність, яка за тривалістю та амплітудою довше зберігається на інтактних судинах.

ВИСНОВКИ

В дисертації наведено нове вирішення наукової задачі щодо фармакопрофілактики порушень, які виникають при ГС, шляхом використання вінборону.

1. Профілактичне одноразове введення вінборону білим мишам та щурам в оптимальних дозах (8 та 16 мг/кг в/о) на моделях Г замкнутого простору та гострої гіпобаричної Г підвищувало тривалість життя тварин на 58 та 104% відповідно ($p \leq 0,5$). В умовах циркуляторної Г у наркотизованих і ненаркотизованих щурів вінборон (6,6 мг/кг в/о) повністю запобігав летальності тварин в критичний період експерименту (загибель більшої половини тварин відповідно на 6 та 1 год досліду). За показником протигіпоксичної активності ($ЕД_{50}$) на моделі Г замкнутого простору вінборон майже в 17 разів перевершує пентоксифілін, співставляючись з емоксипіном: $ЕД_{50}$ відповідно становить 6,6; 110 та 10 мг/кг в/о.

2. Фармакокінетичні параметри вінборону (100 мг/кг в/ш) у щурів з ГГГ вірогідно змінюються відносно інтактних тварин: на 34% зростає період розподілу препарату в камерах організму, в 2,6 рази збільшується об'єм розподілу препарату в центральній камері, сповільнюється виведення з організму, на що вказує зменшення у 7 разів показника константи елімінації,

зменшення в 2,6 рази кліренсу, збільшення площі під фармакокінетичною кривою (у 2,6 рази) та часу утримання вінборону (в 2,7 рази) в плазмі крові.

3. При ХГГ з гіперкапнією введення вінборону (6,6 мг/кг в/ш протягом 35 днів), так само як і пентоксифіліну (100 мг/кг в/ш), вірогідно підвищує фізичну витривалість щурів на 107,9% та 58% відповідно. При цьому вінборон ліпше, ніж пентоксифілін, відновлює електричну стабільність міокарду, блокує розвиток функціонального виснаження та профілактує виникнення дистрофічних та проліферативних процесів у серці, легенях, печінці, нирках та наднирниках тварин. За рівнем фармакопрофілактичної ефективності вінборон перевершує референс-препарат.

4. Протигіпоксична дія вінборону обумовлена вазодилататорним ефектом: в умовах in vitro препарат (10^{-4}- 10^{-8} М) викликає стійке дозозалежне розслаблення скорочених мезатоном кілець аорти. При цьому вазодилататорна активність вінборону більш висока в присутності ендотелію, ніж на деендотелізованих судинах. Вазодилататорна дія вінборону проявляється зростанням на 32% ($p < 0,05$) рівня редукованого (тромбоемболія) мозкового кровотоку у наркотизованих щурів.

5. Антигіпоксична дія вінборону (6,6 мг/кг в/ш), як і пентоксифіліну (116 мг/кг в/ш), обумовлена спроможністю препарату профілактувати порушення метаболічних процесів в ЖВО. Превентивне введення вінборону щурам з ГГГ запобігає виснаженню резервів макроергів в мозку та серці: рівень АТФ зростав відносно контрольних тварин на 31,7% та 43,8% відповідно, КФ – на 78,8% та 81,2% ($p \leq 0,05$) відповідно. При цьому вінборон, подібно до пентоксифіліну, протидіяв розвитку метаболічного ацидозу в ЖВО.

6. Фармакопрофілактична дія вінборону, як і пентоксифіліну, пов′язана з антиоксидантним ефектом. Під впливом вінборону має місце вірогідне зниження в серці та мозку вмісту ГП відповідно на 14,2% та 15,6% ($p \leq 0,05$), МДА - відповідно на 31,5% та 29,6% ($p \leq 0,05$) на фоні зростання активності СОД на 35,7% та 33% відповідно ($p \leq 0,05$) та каталази в міокарді на 14,8% при зниженні її показника в мозку на 32,4% ($p \leq 0,05$). При цьому за величиною антигіпоксичного ефекту вінборон не поступався пентоксифіліну.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Волощук Н.І., Сергеєв С.В., Шаламай А.С. Терапевтична ефективність вінборону при гострому порушенні мозкового кровообігу в експерименті // Ліки.- 2002.- №5-6.- С. 59-62 (Дисертантом особисто проведено експериментальні дослідження, підготовлено матеріал до друку).

2. Дякова О.В. Порівняльна оцінка впливу вінборону та пентоксифіліну на метаболізм головного мозку та серця в умовах гострої гіпоксичної гіпоксії // Вісник Вінницького національного медичного університету.- 2003.- Т.1, №1.- С. 15-17.

3. Дякова О.В., Мудрицький В.Б., Степанюк Г.І., Сулим О.Г. Фармакокінетика вінборону при гострій експериментальній гіпоксії // Вісник Вінницького національного медичного університету.- 2003.- Т.2, №2.- С. 645-647 (Дисертантом особисто проведено експеримент, статистичну обробку результатів та їх оцінку, підготовлено статтю до друку).

4. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Рауцкієне В.Т. Гістоструктурні зміни внутрішніх органів щурів в умовах тренування хронічною гіпоксичною гіпоксією з гіперкапнією та їх корекція вінбороном // Вісник морфології.- 2004.- №10/1.- С. 126-129 (Дисертантом особисто проведено експеримент, інтерпритацію даних, підготовлено матеріал до друку).

5. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Коньков Д.Г., Паршиков О.В. Вивчення ендотелійзалежних механізмів вазоділататорної активності вінборону in vitro // Досягнення біології та медицини.- 2005.- №2(6).- С. 4-8. (Дисертантом особисто проведено експеримент, інтерпритацію даних, підготовлено матеріал до друку).

6. Деклараційний патент на винахід 69111 А, Україна, А61К31/135. Спосіб лікування експериментального гострого порушення мозкового кровотоку / Степанюк Г.І., Дякова О.В., Волощук Н.І., Сергеєв С.В. № 20031211052; Заявл. 5.12.2003 Опубл. 16.08.2004. Бюл.№8 (Дисертантом самостійно здійснено патентний пошук, розроблено схему експерименту, проведено експериментальні дослідження, підготовлено матеріал до друку)

7. Степанюк Г.І., Дякова О.В., Степанюк А.Г. Фармакопрофілактика вінбороном порушень оксидантно - антиоксидантної рівноваги в мозку та серці щурів при гострій гіпоксичній гіпоксії // Мат. міжнародного симпозіуму “Актуальні питання сучасної медичної допомоги населенню”.- Чернівці.- 2003.- С. 103-106.

8. Дякова О.В., Иванова Н.И. Влияние винборона и трентала на метаболизм головного мозга и сердца крыс при острой гипоксической гипоксии // Мат. научно-практической конференции «Медицина будущего».- Краснодар - Сочи.- 2002.- С.60.

9. Дякова О.В., Мудрицький В.Б., Сулим О.Г. Фармакокінетика вінборону при експериментальній гіпоксії // Мат. міжнародної науково-практичної конференції «Клінічна фармація: 10 років в Україні».- Харків.- 2003.- С. 87;

10. Шеремета Р.О., Дякова О.В., Кирничний А.І. Порівняльна оцінка церебропротекторної дії кавінтону, вінборону, пірацетаму, пентоксифіліну,

емоксипіну та натрію оксибутирату // IV Українська міжнародна науково-практична конференція з клінічної фармакології.- Вінниця, 2004.-С. 166-167.

11. Дякова О.В., Степанюк Н.Г. Ефективність вінборону при гіпоксичних та ішемічних станах в експерименті // Мат. до наукової конференції студентів та молодих вчених.- Вінниця.- 2004.- С. 310.

12. Дякова О.В. Фармакопрофілактична ефективність вінборону на моделі гіпоксії замкнутого простору // Мат. X–ій наукової університетської (XXXX-ій вузівської) науково-практичної конференції молодих учених та фахівців.- Вінниця, 2004.- С. 66.

АНОТАЦІЯ

Дякова О.В. Профілактична ефективність вінборону при гіпоксичних станах (експериментальне дослідження). Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за фахом – 14.03.05. - фармакологія. - Інститут фармакології та токсикології АМН України, Київ, 2005.

На лабораторних тваринах вивчали фармакопрофілактичну ефективність вінборону на моделях гострої та хронічної Г. Встановлено, що вінборон, подібно до пентоксифіліну, справляє виразну протигіпоксичну дію на щурів та мишей в умовах гострих ГС. Це проявляється подовженням життя тварин, зниженням показника летальності та покращанням клінічної картини протікання ГС. Профілактичне одноразове введення вінборону білим мишам та щурам в оптимальних дозах (8 та 16 мг/кг в/о) на моделях Г замкнутого простору та гострої гіпобаричної Г підвищувало тривалість життя тварин на 58 та 104% відповідно ($p \leq 0,5$). За показником антигіпоксичної активності ($ЕД_{50}$) при Г замкнутого простору вінборон майже в 17 разів перевершує пентоксифілін. В умовах ХГГ з гіперкапнією профілактична дія вінборону проявляється підвищенням толерантності до фізичного навантаження, відновленням електричної стабільності міокарду, послаблюються розлади кровообігу, дистрофічні, проліферативні та склеротичні процеси в легенях, серці, печінці, нирках та наднирниках щурів. При цьому за рівнем профілактичної ефективності вінборон переважав пентоксифілін.

Протигіпоксична дія вінборону при ГС реалізується за рахунок нормалізації біоенергетичних процесів та відновлення показників АОС. Водночас, протигіпоксична дія вінборону пов'язана з наявністю судиннорозширюючого ефекту. Вазодилататорна дія вінборону проявляється також зростанням редукованого мозкового кровотоку в умовах тромбоемболії. При цьому вінборон активує метаболічні процеси в головному мозку. Сукупність вказаних фармакологічних властивостей вінборону ймовірно

забезпечує достатньо високу антигіпоксичну дію вінборону на моделях гострих та хронічних ГС.

Ключові слова: гіпоксія, вінборон, пентоксифілін

АННОТАЦИЯ

Дякова О.В. Профилактическая эффективность винборона при гипоксических состояниях (экспериментальное исследование). Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности –14.03.05- фармакология. - Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины, Киев, 2005.

Диссертация посвящена профилактической эффективности винборона при острых и хронических гипоксических состояниях.

На разных моделях ГС (Г замкнутого пространства, циркуляторной Г, острой гипобарической Г) показано, что винборон проявляет достаточно высокую эффективность при профилактическом введении в организм. На это указывало удлинение времени жизни, снижение летальности животных и улучшение клинической картины течения Г. Профилактическое введение винборона (6,6 мг/кг внутрибрюшинно) наркотизированным и ненаркотизированным крысам с циркуляторной Г (двусторонняя перевязка сонных артерий) полностью предотвращало гибель животных в критический период эксперимента (гибель больше 50% животных соответственно на 6 и 1 часе исследования). При разработке оптимального режима дозирования винборона установлено, что наиболее высокую фармакопрофилактическую эффективность винборон проявляет в дозе 8 мг/кг за 1 час до моделирования патологии. При этом среднеэффективная доза для человека составляет 1,26 мг/кг.

В основе профилактического действия винборона в условиях Г лежит его способность нормализовать биоэнергетические процессы в сердце и мозге крыс, снижать интенсивность процессов ПОЛ и повышать активность АОС организма. Важную роль в профилактическом действии винборона играют такие его свойства как стимулирующее влияние на микрогемоциркуляцию (за счет антиагрегантного эффекта), способность усиливать метаболические и репаративные процессы, а также вазодилатирующий эффект. Важно отметить, что по величине профилактического действия винборон сопоставим с пентоксифиллином.

Ключевые слова: гипоксия, винборон, пентоксифиллин.

SUMMARY

Dyakova O.V. – Prophylactic effectiveness of vinboron effects at hypoxic states (experimental study). - Manuscript.

Thesis for obtaining the scientific degree of Candidate of medical sciences in speciality 14.03.05 – Pharmacology.- Institute of Pharmacology and Toxycology AMS of Ukrain, Kyiv, 2005.

The dissertation deals with vinboron prophylactic effectiveness at acute and chronic hypoxic states.

Vinboron synthetized at the scientific production center of Borshshagovsky chemical pharmaceutical plant is a new home spasmolytic drug with polytropic pharmacological properties such as spasmolytic, analgetic, antiaggregation, antiischemic, antihypoxic, antioxydant, antiinflammatory, antiarrhythmic, immunomodulating ones. Vinboron has the ability to stimulate coronary and cerebral blood flow and reparation processes.

Prophylactic effectiveness of vinboron has been studied on the experimental animals on the models of acute and chronic hypoxia. It has been determined that vinboron similar to pentoxifylline produced significant antihypoxic effect on rats and mice in the condition of acute hypoxia. It resulted in length of life and improvment of the course of clinical picture. As to the indices of ED_{50} vinboron is 17 times higher than that of pentoxifylline. In the condition of circulatory hypoxia in the anesthetized and nonanesthetized rats vinboron (6,6 mg/kg) completely prevented the death of the experimental animals in a critical period (the death of more than a half of the animals during the sixth and the first hour of the experiment). In the state of chronic hypoxic hypoxia with hyperkapnia the prophylactic effects of vinboron manifests itself in increase of tolerance to physical exercises and recovery of electrical myocardial stability. Histological study of lungs, heart, kidneys, liver and adrenal glands demonstrated pronounced prophylactic effect of vinboron. Prophylactic injection of pentoxifylline improved the blood flow and corrected adaptation processes in myocardium, kidneys and adrenal glands but caused pronounced plethora in lungs with the development of multiple hemorrhages and hemosiderosis that may result in paradoxical effect that is increased hypoxia in this organ. In comparison with pentoxifylline vinboron does not cause sclerotic changes of internal organs and the destruction of hemodynamics which were observed under the action of pentoxifylline. Vinboron caused the increasing adaptation ability of organism to chronic hypoxic hypoxia with hyperkapnia. In this ability vinboron is preferable to pentoxifylline.

Antihypoxic effect of vinboron is realized first of all to the account of normalization of bioenergetic processes and recovery of oxydative-antioxydative balance in vital organs of rats. Preliminary injection of vinboron prevents from exaustion of adenine nucleotide reserves in the brain and heart. Adenosine triphosphoric acid and kreatine-phosphate is increased in comperison with the control animals. Vinboron as well as pentoxifylline prevents from matabolic acidosis in the

heart and brain of rats. Under the influence of vinboron there was a pronounced decrease of hydroperoxides content and malonic dialdegide in the heart and brain on the background of increase of superoxide dismutase and catalase in the myocardium with the decrease of its indices in the brain.

At the same time antihypoxic effect of vinboron is due to the presence of vasodilatative effect in rats. Under the conditions in vitro the drug (10^{-4} - 10^{-8} M) causes stable dose-depended relaxation of shortened by mesaton aorta rings, vasodilatation activity of vinboron being higher in the presence of endothelium than in deendotheliolized vessels. Vasodilatation action of vinboron is shown by the increase of the reduced level of cerebral blood flow in the anesthetized rats. Injection of vinboron unlike cavinton prevented the decrease of arterial pressure on the background of acute thromboembolism. At the examination of arterio-venous difference in cat's blood it was determined that ammonia content reliably decreases with the increase of glucose level up to that of intact animals.

Key words: hypoxia, vinboron, pentoxifylline

АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ

ДЯКОВА Оксана Василівна

УДК: 615 - 084:615.015: 616.152. 21. 001. 5

ПРОФІЛАКТИЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВІНБОРОНУ ПРИ ГІПОКСИЧНИХ СТАНАХ (експериментальне дослідження)

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Київ-2005

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор **СТЕПАНЮК Георгій Іванович**, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України, завідувач кафедри фармакології.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор **СОЛОВЙОВ Анатолій Іванович,** Інститут фармакології та токсикології АМН України, головний науковий співробітник відділу експериментальної терапії.

доктор медичних наук, професор **ЛУК'ЯНЧУК Віктор Дмитрович**, Луганський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри фармакології.

Провідна установа: Одеський державний медичний університет, кафедра загальної та клінічної фармакології МОЗ України, м. Одеса.

Захист дисертації відбудеться “____” _____2005 р. о ____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при Інституті фармакології та токсикології АМН України за адресою: 03057, Київ, вул. Е. Патьє, 14.

З дисертацію можна ознайомитись в бібліотеці Інституту фармакології та токсикології АМН України за адресою: 03057, Київ, вул. Е. Патьє, 14.

Автореферат розісланий “___”_____2005р.

Вчений секретар
спеціалізованї вченої ради Д 26.550.01
кандидат біологічних наук **Данова І.В.**

Підписано до друку 26.10.2005 р. Замовл. № 345.
Формат 60х90 1/16 Ум. друк. арк. 0,9 Друк офсетний.
Наклад 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М.І. Пирогова, Пирогова, 56.