

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

БОНДАРЄВ ЄВГЕН ВІКТОРОВИЧ

УДК: 616-001.18/19:615.03: 547.459.5:547.587.11:616-091.8

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ
ОПТИМІЗАЦІЇ ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ ХОЛОДОВОЇ ТРАВМИ
ЗАСОБАМИ МЕТАБОЛІТОТРОПНОЇ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора фармацевтичних наук

Харків – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Національному фармацевтичному університеті МОЗ України, м. Харків

Науковий консультант: доктор медичних наук, професор
ШТРИГОЛЬ Сергій Юрійович,
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України, завідувач кафедри фармакології

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
ПОДПЛЕТНЯ Олена Анатоліївна,
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ
України», завідувач кафедри загальної та клінічної
фармації

доктор фармацевтичних наук, професор
ГОРДІЄНКО Анатолій Дмитрович,
Національний технічний університет «Харківський
політехнічний інститут» МОН України, професор
кафедри органічного синтезу і нанотехнологій

доктор медичних наук, професор
ВОЛОЩУК Наталія Іванівна,
Вінницький національний медичний університет імені
М.І. Пирогова, завідувач кафедри фармакології

Захист відбудеться « » 2020 р. о 10.00 годині на засіданні спеціалізованої
вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за
адресою: 61002, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

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

Автореферат розісланий « » 2020р.

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

К.Г. Щокіна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Одним з пріоритетних завдань медицини та фармації на сучасному етапі є покращання здоров'я населення, що має стратегічне значення для забезпечення сталого розвитку держави. Наразі темпи скорочення населення в Україні одні з найвищих в Європі – 0,9-1,1 % на рік. Значна частка факторів, що обумовлюють депопуляцію, залежить від низького рівня життя, погіршення стану здоров'я населення України та несприятливих екологічних впливів, яким періодично піддається населення. До таких впливів належить гостра холодова травма (ХТ) (Бойко В. В., 2005; Дмитриев А., 2012). Профілактика та лікування ХТ протягом багатьох сторіч залишаються актуальною проблемою медицини та фармації. Інтерес до цієї проблеми значно зріс після численних публікацій, клінічних спостережень та лабораторних досліджень (Ажаев А. Н., 2008; De Robertis E., 2015). Це пов'язано з тим, що кількість потерпілих від переохолодження, викликаного різними причинами, досить велика та постійно зростає (Луценко М. Т., 2013).

Ушкодження організму низькими температурами зустрічаються практично у всіх частинах нашої планети (Стекольников Н. Ю., 2012; Tsun-Hsuan Chen, 2018). Серед госпіталізованих частка тих, хто має ураження холодом, коливається від 3 % до 30 % і носить переважно сезонний характер. Вихід на інвалідність при відмороженнях складає понад 30 %, а при глибоких ураженнях від 70 % до 94 % (Лобан Е. К., 2010; Козинець Г. П., 2012; Elizbarashvili E. Sh., 2019). Особлива небезпека та висока частота ХТ спостерігається у зимовий час (Сизоненко В. А., 2010; Handford C., 2014). Тривале перебування в умовах низьких температур та високої вологості повітря, особливо за одночасних великих фізичних навантажень – головна причина, що призводить до ХТ (Лобан Е. К., 2010; Луценко М. Т., 2013). Під час бойових дій пов'язані з ХТ втрати бійців мали епідемічний характер. У сучасних умовах, коли на сході України тривають бойові дії, ХТ у зимовий період зустрічається серед військовослужбовців, і ця проблема постає особливо гостро (Arjakovsky A., 2014; Thomas D., 2015).

За даними Центру екстреної медичної допомоги та медицини катастроф України, за період з 12 грудня 2018 року по 8 січня 2019 р. по допомогу до закладів охорони здоров'я звернулись понад 1037 постраждалих від переохолоджень та відморожень, 955 осіб госпіталізовано. Найбільше за цей період від ХТ постраждали в Донецькій (135 людей), Харківській (121), Дніпропетровській (117), Київській (90) та Одеській (69) областях, 150 людей померло внаслідок загального переохолодження (URL: [http:// prn.ua/ru/za-mesyats-ot-morozov-postradali-bolee-tyisyachi-ukraintsev-64-pogibli-moz/](http://prn.ua/ru/za-mesyats-ot-morozov-postradali-bolee-tyisyachi-ukraintsev-64-pogibli-moz/)).

Розвитку ХТ сприяє низка різних факторів, у тому числі соціально-економічні, старіння, наявність фонових захворювань, вплив навколишнього середовища (Warttig S, 2014). Проблема холодових уражень набула не лише медичного, але й соціального характеру через високу частоту інвалідності. Це більшою мірою стосується людей без певного місця проживання, осіб, що зловживають алкоголем, і така тенденція простежується як у нашій країні, так і в західних державах (Ervasti O., 2014; Fudge J., 2016; Mejía-Gómez L. J., 2017; Mattox K., 2012). Відмінною рисою

відморожень є недостатній прояв клінічних симптомів у ранніх періодах травми та несвоєчасне лікування. Щоб уникнути загибелі потерпілих, необхідно забезпечити своєчасну діагностику та надання медичної допомоги (Винник Ю. С., 2011). Велику роль у ХТ відіграють фактори, що знижують загальну опірність організму. Це слабка фізична підготовка, тривала нерухомість, що погіршує системний та локальний кровообіг, погане харчування, перевтома, різні загальні захворювання (Ireland S., 2011). Особливо шкідлива та небезпечна алкогольна інтоксикація.

Під впливом низьких температур в організмі людини змінюються функції ендокринної та імунної систем, відбуваються порушення діяльності ЦНС, кровообігу, дихання, обміну речовин та інших життєво важливих процесів, що може призвести до смерті (Djane R., 2010). Діяльність головного мозку порушується при зниженні температури тіла до 35 °С, що є початком процесу замерзання. При падінні температури до 10-11 °С припиняється кровообіг та виникає некроз тканин (Сизоненко В. А., 2007, 2008), провідна роль у розвитку останнього при глибоких відмороженнях належить порушенням мікроциркуляції (Алексеев Р. З., 2015).

Своєчасне надання медичної допомоги хворим із ХТ є принципово важливим завданням, від якого залежить прогноз та перебіг захворювання. Тому актуальні розробка та впровадження лікарських засобів, здатних відновлювати метаболічні процеси та мікроциркуляцію при ХТ – фригопротектори (Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., 2016; Thomassen O, 2011). Сьогодні як фригопротектори найчастіше застосовують актопротектори та нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), які впливають на основні ланки патогенезу ХТ. На жаль, сучасні лікарські засоби, які застосовують як фригопротектори, не завжди є досить ефективними або мають серйозні побічні ефекти, їх арсенал на ринку України обмежений. Єдиний актопротектор із фригопротекторною дією бемітил (діюча речовина – етилтіобензімідазол) в Україні не зареєстрований.

Актуальним є пошук нових фригопротекторів, що не мають значної кількості протипоказань та обмежень до застосування. З урахуванням вищезазначених загальних ланок патогенезу ХТ одним з перспективних напрямків удосконалення фармакотерапії є вивчення як потенційних фригопротекторів вже відомих лікарських речовин з протизапальними, мембраностабілізуювальними, антиоксидантними, актопротекторними, репаративними властивостями.

Доцільним є дослідження потенційних фригопротекторів синтетичного та природного походження, в тому числі препаратів глюкозаміну. Глюкозамін має широкий спектр фармакологічної активності: протизапальні, аналгетичні, мембраностабілізуювальні, гепато-, нейро-, нефро-, кардіо-, гастро-, гравідо-, хондропротекторні, противиразкові, антиоксидантні властивості тощо (Зупанець І. А., 2012; Бондарев Є. В., 2016; Деримедвідь Л. В., 2018). Ці властивості в сукупності є предикторами інтегральної фригопротекторної активності глюкозаміну, яка на початку цього дослідження залишалась невідомою.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертацію виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт НФаУ МОЗ України у рамках тем «Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у

медичній практиці» (номер держреєстрації 0103U000478, 2003–2013 рр.) та «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956, 2014–2023 рр.).

Мета і завдання дослідження. *Мета* дослідження – теоретичне та експериментальне обґрунтування доцільності використання низки лікарських препаратів, дієтичних добавок та біологічно активних речовин для профілактики та лікування холодових травм.

Досягненню мети служило розв'язання таких *завдань*:

1. Провести скринінг на фригопротекторну активність низки засобів, від яких за сукупністю фармакологічних властивостей можливо очікувати таку дію: субстанції Г г/х, глюкозаміну сульфату («Дона»), дієтичної добавки «Глюкозамін-С БХФЗ», субстанції бемітилу (етилтіобензімідазол), ацетилсаліцилової кислоти (АСК), аскорбінової кислоти, «Ліпіну», «Корвітину», «Ліпофлакону», «Полентару», екстракту родіоли рідкого.

2. Дослідити стреспротекторну дію потенційних фригопротекторів-лідерів в умовах гострої загальної холодової травми за триадою Сельє та станом гістоструктури наднирників.

3. Оцінити особливості впливу потенційних фригопротекторів-лідерів на стан центральної нервової системи, на координацію рухів тварин та фізичну витривалість після гострого загального охолодження.

4. Вивчити вплив сполук-лідерів за фригопротекторною активністю на температуру тіла та стан внутрішніх органів і шкіри тварин після гострого загального охолодження.

5. Дослідити стан системи крові тварин у відновному періоді після гострого загального охолодження під впливом потенційних фригопротекторів-лідерів.

6. З'ясувати вплив потенційних фригопротекторів на перебіг гострої алкогольної інтоксикації та при комбінованій алкогольно-холодовій травмі.

7. Оцінити ефективність потенційних фригопротекторів при локальній холодовій травмі за динамікою температури тіла, станом центральної нервової системи, фізичної витривалості, гемокоагуляції, планіметричними показниками та морфологічними змінами шкіри щурів з експериментальною моделлю відмороження.

8. Встановити можливі механізми фригопротекторної дії абсолютного лідера за ефективністю захисного впливу при холодових травмах за вмістом N-ацетилглюкозаміну, показниками вуглеводного обміну, рівнем інтерлейкінів у крові, вмістом кортизолу, впливом на прооксидантно-антиоксидантний баланс, участю адрено- та холінорецепторів.

9. Оцінити захисні властивості дієтичної добавки «Глюкозамін-С БХФЗ» у курсантів Національної академії Національної гвардії України (НАНГУ) в умовах польових навчань у зимовий період.

Об'єкт дослідження: фармакологічна корекція холодової травми (гостре загальне охолодження та відмороження).

Предмет дослідження: фригопротекторні властивості біологічно активних речовин, лікарських препаратів та дієтичних добавок.

Методи дослідження: фармакологічні (моделювання загального гострого охолодження (ГЗО) та відмороження, комбінованої алкогольно-холодової травми, пригнічення ЦНС за допомогою етанолу), біохімічні (визначення вмісту креатиніну, білка, глюкози, глікогену, лактату, пірувату, коефіцієнту лактат/піруват, дієнових кон'югатів (ДК), ТБК-реактивів, активності супероксиддисмутази (СОД) та каталази, вмісту ендogenous N-ацетилглюкозаміну (N-ацГА)), гематологічні (вміст еритроцитів, гемоглобіну, лейкоцитів, лейкоцитарна формула, швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ), агрегація тромбоцитів, час згортання крові, протромбіновий час (ПЧ), тромбіновий час (ТЧ), активований частковий тромбoplastиновий час (АЧТЧ)), імунобіохімічні (вміст інтерлейкінів ІЛ-1 β та ІЛ-10, рівень кортизолу), гістологічні (дослідження гістоструктури наднирників та шкіри методом світлової мікроскопії), психологічні (коректурна проба), статистичні (програми Excel, Statistics 6.0, t-критерій Ст'юдента, U-критерій Манна-Вітні, кутове перетворення Фішера (критерій ϕ^*), кореляційний аналіз).

Наукова новизна одержаних результатів. У порівняльному дослідженні 13 потенційних фригопротекторів природного та синтетичного походження вперше визначено, що 8 препаратів та субстанцій, а саме Г г/х, «Глюкозамін-С БХФЗ», АСК, «Корвітин», «Ліпофлавіон», «Ліпін», аскорбінова кислота, екстракт родіоли рідкий статистично значуще збільшують час життя тварин в умовах ГЗО. Найбільш ефективним є Г г/х – його фригопротекторна активність на моделі ГЗО склала 76,4 %, а у «Глюкозаміну-С БХФЗ» у дозі 82,5 мг/кг (33 %). Підтверджено виразні фригопротекторні властивості АСК, вперше виявлено їх у препаратів кверцетину «Ліпофлавіону» (57,8 %) та «Корвітину» (16,7 %), а також «Ліпіну» (59,2 %), етілтіобензімідазолу (20,9 %), які є перспективними фригопротекторами.

При ГЗО та локальній ХТ під впливом Г г/х вперше виявлено нормалізацію температури тіла. Встановлено, що Г г/х покращує стан ЦНС тварин у відновному періоді після ГЗО, виявляє позитивний вплив на поведінку, усуває тривожність, відновлює пам'ять, нормалізує м'язовий тонус та фізичну витривалість мишей. Профілактичне введення препаратів глюкозаміну позитивно впливає на гістоструктуру наднирників щурів із гострою ХТ, обмежуючи стресову реакцію, відновлює параметри клітин пучкової зони та стабілізує функціональну активність кортикоцитів пучкової зони.

Вперше виявлено вплив потенційних фригопротекторів на стан видільної функції нирок після ГЗО. На відміну від АСК та «Ліпіну», Г г/х нормалізує концентраційну функцію нирок.

Вперше встановлено, що Г г/х при ГЗО нормалізує стан серцево-судинної системи, статистично значуще ($p < 0,05$) зменшує систолічний показник (СП), що вказує на позитивну інотропну дію Г г/х, за якою він переважає інші фригопротектори. У препаратів глюкозаміну виявлено потужну репаративну дію та позитивний вплив на морфофункціональний стан наднирників та шкіри щурів після ХТ на відміну від АСК.

Вперше доведено, що Г г/х та «Глюкозамін-С БХФЗ» вірогідно нормалізують ступінь та швидкість агрегації тромбоцитів – як АДФ- (17 %, 6,5 % та 22,5 %, 6,8 % відповідно), так і адреналін-індукованої (9,9 %, 17,4 % та 12,6 %, 20,7 % відповідно)

щодо показників групи КП. Отже, препарати глюкозаміну нормалізують швидкість та ступінь агрегації при обох видах індукції. Вперше показано, що за ХТ застосування АСК, навпаки, може бути небезпечним внаслідок надмірного пригнічення агрегації тромбоцитів, що загрожує кровотечами.

Вперше встановлено, що Г г/х на моделі алкогольної інтоксикації незалежно від шляху введення чинить потужний алкопротекторний ефект, за яким у 2,5 разу перевищує пірацетам. Під дією Г г/х час життя мишей із гострою ХТ та тлі алкогольної інтоксикації статистично значуще збільшуються порівняно з КП у середньому на 28,6 %. Тривалість життя тварин під впливом Г г/х у дозах 25 та 50 мг/кг на тлі ГЗО без алкогольної інтоксикації зростає на 26,4 % та 28,1 % відповідно, що підтверджує фригопротекторні властивості досліджуваної речовини.

Вперше з'ясовано основні ланки механізмів фригопротекторної дії Г г/х на моделях загальної та локальної ХТ. Виявлено, що рівень ендогенного N-ацГА в печінці, нирках та сироватці крові є маркером ступеня холодового пошкодження організму та інформативним критерієм ефективності лікування. Г г/х сприяє нормалізації вмісту N-ацГА в печінці, нирках та сироватці крові. Вперше показано, що за ХТ на тлі Г г/х максимально наближаються до норми показники вуглеводного обміну та кореляційні зв'язки між ними та температурою тіла, в той час як під дією АСК спостерігається лише тенденція до відновлення цих показників. Встановлено, що Г г/х на тлі ХТ вірогідно знижують вміст протизапального інтерлейкіну IL-1 β (на 72,2 % проти 34,2 % на тлі АСК) та підвищує вміст протизапального IL-10 (на 74,7 %). Доведено, що в умовах холодового стресу при локальній ХТ субстанція Г г/х, «Глюкозамін-С БХФЗ» та меншою мірою АСК вірогідно знижують рівень кортизолу в сироватці крові, що свідчить про стреспротекторні властивості.

Вперше встановлено участь α_1 -адрено- та М-холінорецепторів у механізмі фригопротекторної дії Г г/х при ГЗО у мишей: Г г/х зберігає фригопротекторні властивості на тлі блокади β -адренорецепторів різних типів та стимуляції α_2 -адренорецепторів, але в умовах блокади М-холінорецепторів або α_1 -адренорецепторів його фригопротекторні властивості не виявляються.

Вперше доведено, що застосування дієтичної добавки "Глюкозамін-С БХФЗ" в умовах двотижневого впливу низьких температур довкілля під час зимових польових навчань у курсантів достовірно знижує частоту виникнення гострих респіраторних захворювань ($p < 0,05$), покращує адаптацію організму до тривалої дії холодового чинника, підвищує концентрацію уваги (на 19,8 %) та розумову працездатність (на 22,7 %) за результатами коректурної проби.

Практичне значення отриманих результатів. Комплекс отриманих результатів обґрунтовує доцільність пошуку та дослідження нових фригопротекторів серед природних та синтетичних сполук. Результати поглибленого вивчення фармакологічних властивостей препаратів та субстанції глюкозаміну дозволяють вважати Г г/х та «Глюкозамін-С БХФЗ» перспективними фригопротекторами з багатовекторним механізмом дії та здатністю впливати на більшість основних ланок патогенезу ХТ. За комплексною фригопротекторною дією та рівнем безпеки препарати глюкозаміну вірогідно перевершують відомий фригопротектор АСК. Отримані дані відкривають нові можливості щодо

використання препаратів глюкозаміну в лікуванні та профілактиці ХТ різної етіології та є обґрунтуванням доцільності розширення показань до медичного застосування Г г/х.

Інформаційними листами про нововведення у сфері охорони здоров'я № 94 від 2014 р. «Перспективи використання глюкозаміну гідрохлориду як засобу фригопротекторної дії при поєднаній алкогольно-холодовій травмі» та № 95 від 2014 р. «Перспективи використання глюкозаміну гідрохлориду як засобу фригопротекторної дії» продемонстровано перспективи вдосконалення фармакотерапії ХТ (загальне охолодження) та при поєднаній алкогольно-холодовій травмі. Патентами України на корисну модель «Застосування корвітину як засобу фригопротекторної дії» (№ 52376 від 25.08.2010), «Застосування ліпофлаону як засобу фригопротекторної дії» (№ 52378 від 25.08.2010), «Застосування ліпіну як засобу фригопротекторної дії» (№ 52379 від 25.08.2010), патентами України на винахід «Застосування глюкозаміну гідрохлориду як засобу фригопротекторної дії» (№ 96649 UA від 25.11.2011), «Застосування полентару як засобу фригопротекторної дії» (№ 106373 UA від 26.08.2014) висвітлено лікування ХТ шляхом використання низки фригопротекторних засобів природнього та синтетичного походження.

Крім того, вдосконалено методичні підходи до оптимізації надання медичної допомоги та фармакотерапії постраждалим від ХТ, що підтверджено методичними рекомендаціями (протокол ДЕЦ МОЗ України № 6 від 27.02.2018 р.), методичні підходи до оптимізації доклінічних досліджень лікарських засобів з фригопротекторними властивостями (протокол ДЕЦ МОЗ України № 6 від 27.02.2018 р.).

Експериментально доведено фригопротекторний ефект Г г/х. Отримані результати відкривають нові можливості використання аміноцукрів у лікуванні та профілактиці ХТ різної етіології, дозволяють розширити показання до медичного застосування Г г/х, який до цього часу використовується переважно як хондропротектор для лікування захворювань суглобів та хребта.

У рамках діяльності кластеру «Повноцінне харчування: інноваційні аспекти технології, енергоефективного виробництва та маркетингу», що об'єднує НФаУ та Національну академію Національної гвардії України (НАНГУ), у зимовий період 2018 р. в умовах польових навчань виявлено в експерименті та підтверджено в дослідженні на курсантах-добровольцях фригопротекторну дію біологічно активної добавки «Глюкозамін-С БХФЗ», яка містить Г г/х та вітамін С, що використовується в практичній діяльності НАНГУ.

Результати дослідження впроваджено у науково-педагогічний процес кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету (протокол № 11 від 15.01.2013 р.), кафедри загальної та клінічної фармакології Одеського національного медичного університету (протокол № 4 від 05.12.2014 р.), кафедри фармакології Таджицького державного медичного університету ім. Абу Алі Ібн Сіно (протокол №1 від 29.08.2016 р.), відділу фармакології ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» (протокол № 1 від 17.05.2018 р.), кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (протокол № 28 від 29.05.2018 р.), кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 13 від 24.05.2018 р.),

кафедри фармакології з клінічною фармакологією ТДМУ ім. І. Я. Горбачевського (протокол № 8 від 18.05.2018 р.), кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 10 від 7.05.2018 р.), кафедри фармакології і фармакотерапії Івано-Франківського національного медичного університету (протокол № 9 від 6.06.2018 р.), кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗУ «УМСА» (протокол № 18 від 22.05.2018 р.), кафедри технічного та тилового забезпечення факультету логістики Національної академії Національної гвардії України (протокол № 10 від 04.12.2018 р.), у роботу комунального закладу «Рівненська обласна наукова медична бібліотека» (протокол № 85 від 15.05.2018 р.).

Особистий внесок здобувача. Дисертант особисто провів інформаційно-патентний пошук, проаналізував джерела літератури, визначив мету та завдання, за допомоги наукового консультанта обрав методи дослідження, обґрунтував актуальність проблеми та обсяг експериментальних досліджень. Самостійно виконав усі експерименти, математичну та статистичну обробку результатів, систематизував їх, сформулював основні положення і висновки дисертаційної роботи, підготував матеріали до публікацій та впровадження.

Морфологічні дослідження шкіри та наднирників у щурів виконано на базі ЦНДЛ НФаУ за консультативної допомоги с. н. с., к. біол. н. Лар'яновської Ю. Б., а також на базі КЗ «Чернігівського обласного патолого-анатомічного бюро» за консультативної допомоги лікарів-патологоанатомів вищої категорії Синиці В. О., Савенко П. В. та Беляєвої С. В.

Вивчення агрегації тромбоцитів та вміст ендogenous N-ацГА у щурів після ГЗО виконано на базі кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації НФаУ під керівництвом д. мед. н., проф., зав. кафедри Зупанця І. А. та за консультативної допомоги к. фарм. н., доцента Отрішко І. А. та к. фарм. н, доцента Шебеко С. К.

Імунобіохімічні та біохімічні дослідження проводили на базі ХНМУ у співпраці з к. біол. н., доц. каф. біохімії Т. В. Горбач. Визначали вміст інтерлейкінів прозапальної та протизапальної дії (IL-1 β та IL-10), продуктів ПОЛ: дієнових кон'югатів (ДК), ТБК-реактантов, а також активності ферментів АОС – супероксиддисмутази (СОД) і каталази та вміст кортизолу в сироватці крові щурів.

Захисні властивості дієтичної добавки «Глюкозамін-С БХФЗ» у курсантів досліджували на базі НАНГУ (м. Харків) за організаційної участі заступника начальника НАНГУ по роботі з особовим складом полковника, к. психол. н., доцента Товми М. І.; лікаря-спеціаліста медичної частини НАНГУ Скрипки А. О.; капітана, к. т. н., доцента кафедри технічного та тилового забезпечення НАНГУ Товми Л. Ф.; підполковника, к. військ. н., начальника науково-організаційного відділу НАНГУ Морозова І. Є.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертант навів результати власних експериментальних досліджень, взяв участь в аналізі та узагальненні отриманих даних, написав тексти статей і тез. Співавторами частини наукових праць є науковий консультант С. Ю. Штриголь та науковці, спільно з якими проведено окремі дослідження: І. А. Зупанець, Н. В. Бездітко, Т. В. Горбач, Ю. Б. Лар'яновська, С. М. Дроговоз, О. Ф. Пімінов, О. Я. Міщенко, Н. А. Домар, А. С.

Шаламай, І. А. Отрішко, О. В. Товчига, О. О. Койро, С. М. Бородай, А. О. Скрипка, Л. Ф. Товма, І. Є. Морозов, В. О. Синиця, П. В. Савенко, С. В. Беляєва.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (м. Харків, 2010 р.), IV Національному з'їзді фармакологів України (м. Київ, 2011 р.), Національному конгресі «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (м. Харків, 2013 р.), VII Науково-практичній Internet конференції «Фармакоекономіка в Україні» (м. Харків, 2014 р.), Науково-практичній конференції з міжнародною участю та школою молодих вчених «Фармакологія, фізіологія і патологія нирок, сечовивідних шляхів та водно-сольового обміну» (м. Харків, 2014 р.), Республіканській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации» (г. Ташкент, 2015 г.), VIII Науково-практичній конференції «Фармакоекономіка в Україні» (м. Харків, 2015 р.), Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (м. Харків, 2016 р.), IX Науково-практичній конференції «Фармакоекономіка в Україні» (м. Харків, 2017 р.), Науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті академіка Л.Т. Малої (м. Харків, 2017 р.), V Національному з'їзді фармакологів України (м. Запоріжжя, 2017 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (м. Харків, 2018 р.), 42nd Annual Conference of Young Scientists Cold in Biology and Medicine – 2018. May 23-24th 2018 dedicated to the 100th Anniversary of the National Academy of Sciences of Ukraine, VI международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (г. Шымкент, Республика Казахстан, 2018 г.), Науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (м. Харків, 2018 р.), Науково-практичній конференції «Службово-бойова діяльність Національної гвардії України: сучасний стан, проблеми та перспективи» (м. Харків, 2018 р.), Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні тенденції та перспективи розвитку фізичної підготовки та спорту Збройних Сил України, правоохоронних органів, рятувальних та інших спеціальних служб на шляху Євroatлантичної інтеграції України» (м. Київ, 2019 р.), Науково-практичній internet-конференції «Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації» (м. Харків, 2019 р.), III Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні тенденції та перспективи розвитку фізичної підготовки та спорту Збройних Сил України, правоохоронних органів, рятувальних та інших спеціальних служб на шляху євroatлантичної інтеграції України» (м. Київ 21-22 листопада 2019 р.).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 54 наукові роботи, з них 15 статей у виданнях, що рекомендовано МОН України, 4 статті у зарубіжних журналах, які входять до міжнародних наукометричних баз, 1 стаття у профільному науковому журналі РФ, 5 патентів України, 2 інформаційні листи, 2 методичні розробки, 20 тез міжнародних і вітчизняних науково-практичних форумів.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 416 сторінці комп'ютерного друку та складається з анотації, списку друкованих праць, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 9 розділів власних досліджень, розділу, присвяченого аналізу та узагальненню експериментальних даних, висновків, переліку використаних джерел, що містить посилання на 579 джерел (390 – кирилицею, 189 – латиницею) та додатків. Дисертація ілюстрована 45 таблицями та 70 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. У роботі використано 530 білих мишей обох статей масою 18-26 г та 362 білих щурів масою 180-240 г, вирощених у віварію ЦНДЛ НФаУ, який атестований МОЗ України (посвідчення № 058/15 від 08.12.2015 р., чинне до 07.12.2019 р.), відповідно до санітарно-гігієнічних норм із дотриманням принципів Директиви 2010/63/EU Європейського Парламенту і Ради ЄС «Про охорону тварин, використовуваних з науковою метою» (Брюссель, 2010) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), що засвідчено висновком комісії з питань біоетики НФаУ (протокол № 2 від 4 листопада 2019 р.). Процедури, що викликають біль, проведено під наркозом (тіопентал натрію, 40 мг/кг). Основним критерієм при виборі методів була максимальна інформативність та відповідність поставленим завданням. З урахуванням хронофармакологічного чинника всі досліді з виявлення ефектів певного препарату виконували синхронно з відповідним контролем. Дизайн дослідження наведено на рис.1.

Скринінг потенційних фригопротекторів виконано на 220 білих мишах (самці та самки) на моделі ГЗО при -18°C . Досліджувані субстанції та препарати вводили в/о або в/ш за 30 хв до початку холодового впливу. У скринінгу при в/о введенні використано АСК (табл., «Вауег», Німеччина) у дозах 15, 25, 30, 50, 250 мг/кг і Г г/х (Sigma-Aldrich, Німеччина) у дозах 15, 25 та 50 мг/кг. Доза АСК 250 мг/кг є надзвичайно високою та такою, що наближається до летальних доз. Але саме цю дозу використано при вивченні фригопротекторних властивостей АСК Н. А. Назаренко (2001), тому її досліджено. Проведено скринінг солей глюкозаміну при в/ш введенні: Г г/х у дозі 50 мг/кг, глюкозаміну сульфат («Дона», порошок, Роттафарм Ірландія) у дозі 50 мг/кг, дієтична добавка «Глюкозамін-С БХФЗ» (капсули, ПАТ НВЦ БХФЗ) у дозі 82,5 мг/кг (ця доза еквівалентна 50 мг/кг за Г г/х). Аскорбінову кислоту (драже, Київський вітамінний завод) вводили в/ш у дозі 4 мг/кг, що відповідає її вмісту в 82,5 мг/кг «Глюкозаміну-С БХФЗ». Препарати «Корвітин» (ліофілізат, БХФЗ) у дозі 100 мг/кг, «Ліпофлавіон» (ліофілізат, ЗАТ «Біолек») у дозі 590 мг/кг, «Ліпін» (ліофілізат, ЗАТ «Біолек») у дозі 734 мг/кг, відповідні допоміжні речовини в еквівалентних дозах (ПВП – 90 мг/кг, лактозу – 213 мг/кг) вводили в/ш за 30 хв до ГЗО. Дози «Корвітину» відповідають ефективним дозам за протизапальною та органо-протекторною активністю (Зупанець І. А., 2016; Горошко О. М., 2010). Доза «Ліпофлавіону» еквівалентна дозі «Корвітину» за кверцетином, доза «Ліпіну» – дозі «Ліпофлавіону» за вмістом фосфотидилхоліну.



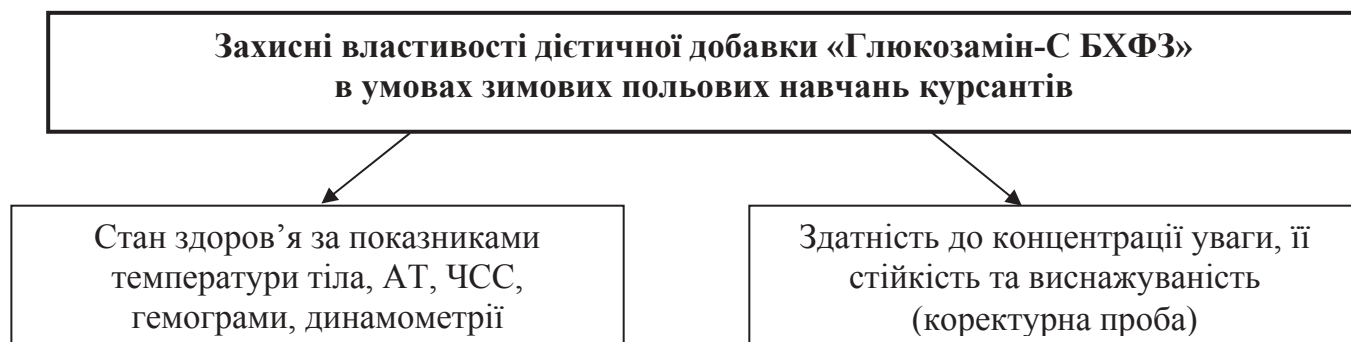


Рис. 1 Дизайн дослідження потенційних фригопротекторів

Пошук потенційних фригопротекторів серед актопротекторів та адаптогенів також проводили на моделі ГЗО при в/ш введенні.

Використано субстанцію етилтіобензімідазолу (бемітил) у дозі 50 мг/кг (Квітчата Г. І., 2001), «Полентар» у дозі 50 мг/кг (Міщенко О. Я., 2012) та екстракт родіоли рідкий у дозах 1 та 5 мл/кг (Луцак І. В., 2011). В усіх дослідах були групи інтактного контролю (ІК) та контрольної патології (КП), тварини яких отримували розчинник замість досліджуваних препаратів.

Характеристика моделей та досліджувані показники. На етапі скринінгу для моделювання ГЗО мишей розміщували в індивідуальних пластикових пеналах розміром 8×8×15 см, які не обмежують доступ до повітря та рухливість тварин. Тварин у пеналах вміщували до холодильної камери Nord Inter 300 з прозорими дверцятами при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Дрозд Ю. В., Бондаренко С. В., 1991; Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Дроговоз С. М., Щокіна К. Г., 2018). Реєстрували час загибелі у кожній групі. Інтегральний критерій захисної дії – час виживання тварин, який визначали для мишей кожної статі. Фригопротекторну активність розраховували як відсоток збільшення тривалості життя відносно КП.

Для поглиблених досліджень використовували модель ГЗО на мишах (експозиція тварин при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ складала 30 хв) та на щурах (експозиція при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом 2 год) (Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Дроговоз С. М., Щокіна К. Г., 2018). Розмір пластикових пеналів для щурів більше – 20×20×40 см.

ГЗО викликає стрес-реакцію. Для вивчення стреспротекторних властивостей фригопротекторів у щурів через 2 год після відтворення ХТ половину тварин кожної групи піддавали евтаназії передозуванням тіопенталового наркозу. Використовували лідер за фригопротекторною активністю Г г/х (50 мг/кг), АСК (25 мг/кг) та «Глюкозамін-С БХФЗ» 82,5(мг/кг). Стреспротекторну активність оцінювали за критеріями тріади Сельє: масові коефіцієнти (МК) наднирників та тімуса, частотою виразкоутворень у шлунку (Сельє Г., 1960). На другу добу після ХТ щурів піддавали евтаназії, визначали МК наднирників, які брали для гістологічного дослідження.

Вплив Г г/х (25 мг/кг) порівняно з АСК (25 мг/кг) та етилтіобензімідазолом (50 мг/кг) на поведінку мишей оцінювали через 15 хв. після ГЗО за тестом відкритого поля (ВП) (Миронов А. Н., 2012). Критерії оцінки: кількість перетнутих квадратів,

заглядань в отвори, вертикальних стійок, фекальних болюсів, актів уринацій, епізодів грумінгу впродовж 3 хв спостереження.

Досліджували м'язовий тонус, координацію рухів тварин за допомогою стрижня, що обертається зі швидкістю 10 об/хв (Миронов А. Н., 2012). Цей тест проводили після моделювання гострої ХТ. За 30 хв до ГЗО вводили АСК у дозі 25 мг/кг, субстанції Г г/х та етилтіобензімідазолу відповідно у дозах 25 та 50 мг/кг. Враховували кількість тварин, що втрималися менше 30 с та більш ніж 30 с.

Вплив потенційних фригопротекторів на фізичну витривалість мишей оцінювали за тестом плавання з навантаженням після ГЗО через 2,5 год. За 30 хв до ГЗО вводили АСК у дозі 25 мг/кг, субстанції Г г/х та етилтіобензімідазолу відповідно у дозах 25 та 50 мг/кг. Тваринам на корінь хвоста прикріплювали вантаж (10% маси тіла). Мишей вміщували в басейну діаметром 1×1 м з водою кімнатної температури. Реєстрували час плавання до моменту, доки тварина не могла випірнути з води протягом 10 с, та тривалість плавання (Миронов А. Н., 2012).

Стан видільної функції нирок в умовах водного діурезу після ГЗО вивчали на мишах. За 30 хв до ГЗО вводили АСК у дозі 25 мг/кг, субстанцію Г г/х у дозі 25 мг/кг, «Ліпін» у дозі 734 мг/кг та субстанцію етилтіобензімідазолу у дозі 50 мг/кг. Через 30 хв після холодового впливу визначали стан видільної функції нирок в обмінних клітках в умовах водного навантаження (5 % від маси тіла у шлунок). Вимірювали діурез за 2 год, концентрацію в сечі та екскрецію креатиніну, білка, глюкози та сечовини (набори виробництва НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна). Концентрацію креатиніну визначали фотоколориметрично за реакцією Яффе, білка – за реакцією з сульфосаліциловою кислотою, глюкози – глюкозооксидазним методом. Розраховували екскрецію креатиніну, білка, глюкози та сечовини, коефіцієнти кореляції між об'ємом сечі та вмістом у ній креатиніну та сечовини, що є маркером стану концентраційної функції нирок (Штриголь С. Ю., 2007).

Вплив потенційних фригопротекторів на стан серцево-судинної системи на тлі ГЗО виконано на щурах. «Глюкозамін-С БХФЗ» у дозі 82,5 мг/кг, субстанцію Г г/х у дозі 25 мг/кг та АСК у дозі 25 мг/кг вводили в/ш у профілактичному режимі за 30 хв до ХТ. Через 40 хв після моделювання ГЗО у щурів вимірювали ректальну температуру цифровим термометром WSD-10 (Китай), артеріальний тиск (АТ), реєстрували електрокардіограму (ЕКГ). АТ визначали на хвостовій артерії тонометром LE-5001, Panlab s.l (Іспанія), ЕКГ реєстрували під тіопенталовим наркозом у дозі 40 мг/кг в/о за допомогою електрокардіографа ЕК1Т-03 М2. Запис проводили в II стандартному відведенні за швидкості руху стрічки 50 мм/с. Вимірювали такі показники: RR – тривалість повного серцевого циклу; тривалість інтервалу PQ, який характеризує передсердно-шлуночкову провідність; тривалість шлуночкового комплексу ORS та електричної систоли шлуночків – інтервалу Q-T; вольтаж зубців P, T і R. Розраховували частоту серцевих скорочень (ЧСС, уд/хв) як співвідношення часу (60 с) до тривалості серцевого циклу, а також маркер скоротливої функції – систолічний показник (СП) як співвідношення тривалості інтервалу QT до тривалості серцевого циклу RR (QT/RR, %).

Досліджено вплив потенційних фригопротекторів на гематологічні показники щурів після ГЗО: ШОЕ, вміст еритроцитів, гемоглобіну, рівень лейкоцитів, лейко-

цитарну формулу. Гематологічні показники вивчали через 40 хв після ХТ за загально-прийнятими методиками. ШОЕ вимірювали за методом Панченкова (Ватулин Н. Т., 2009). Для лейкоцитарної формули брали кров з хвоста щура, фіксували і забарвлювали за Романовським-Гімза (Камышников В. С., 2009). Коагулологічні показники визначали за часом зсідання крові, протромбіновим часом (ПЧ), тромбoplastиновим часом (ТЧ), активованим частковим тромбoplastиновим часом (АЧТЧ), використовували стандартні набори («Технологія-Стандарт», Росія та НПО «Ренам»). Агрегацію тромбоцитів досліджено через 40 хв після ГЗО на приладі AP 2110 SOLAR (Беларусь), як індуктори агрегації використовували аденозиндифосфат («Технологія-Стандарт», Росія) та адреналіну тартрат (ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна). Визначали ступінь (%) та швидкість агрегації (%/хв.).

Вивчено вплив Г г/х на алкогольний наркотичний сон та його захисний ефект при ГЗО на тлі алкогольної інтоксикації в експерименті на мишах. Алкогольну інтоксикацію моделювали в/о введенням 12,5 % розчину етилового спирту у дозі 5,5 г/кг (Бондарев Є. В. та співавт., 2018). Препаратом порівняння служив ноотропний засіб пірацетам (табл. БХФЗ), який є антагоністом етанолу. Г г/х у дозі 50 мг/кг, пірацетам у дозі 200 мг/кг та 0,9 % розчин NaCl (контроль) вводили за 30 хв до моделювання наркотичного сну. Визначали кількість тварин, які впали до наркозу, та тривалість наркотичного сну. Антиалкогольну активність розраховували як % зменшення середньої тривалості бічного положення в експериментальній групі відносно цього показника у групі КП. Комбіновану алкогольно-холодову травму моделювали за умов ГЗО та алкогольної інтоксикації тварин (Бондарев Є. В. та співавт., 2018). За 1 год до впливу низьких температур мишам вводили 20 % етиловий спирт у дозі 3 г/кг в об'ємі 0,17-0,20 мл. Препарати вводили одноразово у профілактичному режимі, визначали час життя мишей.

Контактне відмороження моделювали у щурів за методом Бойко В. В. під тіопенталовим наркозом (Бондарев Є. В. та співавт., 2018) на депільованих ділянках шкіри спини, відступивши від хребта 1,5 см. Використовували мідну пластину розміром 3,5×3,0 см, яку попередньо охолоджували в рідкому азоті (-196°C), після чого прикладали до шкіри на 3 хв. Цей метод дозволяє отримати стандартні за площею та глибиною холодові ураження шкіри, що відповідають III ступеню відморожень за клінічною класифікацією. Як інтегральний показник стану тварин після гострої локальної травми використовували масу тіла (г). Площу уражених ділянок шкіри (мм²) визначали планіметричним методом у динаміці на 1, 3, 5 та 10 добу. Лідери попереднього скринінгу Г г/х (50 мг/кг), «Глюкозамін-С БХФЗ» (82,5 мг/кг) та АСК (25 мг/кг) вводили в/ш в профілактичному та лікувальному режимі за 30 хв до ХТ та щодня одноразово. На 3 та 10 добу після експерименту оцінювали систему згортання крові: час згортання крові, ПТ, ТТ, АЧТЧ, як описано вище. На 3 та 7 добу після етаназії летальною дозою тіопенталового наркозу брали зразки ділянок шкіри спини.

Гістоструктуру наднирників, шкіри хвоста після ГЗО та спини щурів після контактного відмороження вивчали світлооптичним методом. Зразки органів фіксували у 10% розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої

концентрації, заливали у парафін, зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. На зрізах наднирників за допомогою програми Tourcam Granum вимірювали ширину зон кіркової речовини (мкм): клубочкової (ШКЗ), пучкової (ШПЗ), сітчастої (ШСЗ); площу клітин (SkПЗ) та ядер (СяПЗ) адренокортикоцитів пучкової зони (мкм²). Мікрофотографування зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4 GHz за допомогою програми Tour View.

Вивчення механізмів фригопротекторної дії. Визначення вмісту ендogenous N-ацГА в сироватці крові, печінці та нирках проведено в умовах ГЗО на щурах. Г г/х (50 мг/кг) та АСК (25 мг/кг) вводили в/ш у профілактичному режимі за 30 хв до відтворення ГЗО. Вміст N-ацГА через 40 хв після ХТ визначали за реакцією взаємодії гексозаміну з ацетилацетоном та реактивом Ерліха в спиртовому середовищі (Зупанец І. А., Дроговоз С. М., 1996).

Вплив Г г/х та АСК на вуглеводний обмін в умовах ГЗО вивчено на щурах. Досліджувані препарати вводили у вигляді водного розчину в/о в профілактичному режимі за 30 хв до ХТ. Після експерименту тварин вміщували в сухі клітки при кімнатній температурі без додаткового зігрівання. Через 40 хв після ХТ вимірювали ректальну температуру, визначали вміст глюкози в сироватці крові (глюкозо-оксидазним методом), а також глікогену, лактату, пірувату в гомогенаті печінки у щурів (стандартні набори НВП «Філісіт-Діагностика» і ТОВ «СпайнЛаб»), розраховували коефіцієнт лактат/піруват.

Вміст інтерлейкінів прозапальної та протизапальної дії (ІЛ-1 β та ІЛ-10) у крові визначали у щурів після ГЗО. Імунобіохімічні дослідження цих цитокінів проводили стандартними наборами «Інтерлейкін-1 бета-ИФА- БЕСТ, А-8766» та «Інтерлейкін-10-ИФА- БЕСТ, А-8774»). Використовували Г г/х (50 мг/кг), «Глюкозамін-С БХФЗ» (82,5 мг/кг) та АСК (25 мг/кг). Вплив фригопротекторів на вміст ІЛ-1 β та ІЛ-10 у сироватці крові визначали через 40 хв після ХТ.

Вивчено зміни рівня кортизолу в сироватці крові як маркер стрес-реакції у щурів на моделі ГЛХТ (7 доба) методом твердофазного імуноферментного аналізу (набір реактивів «Кортизол-ИФА-БЕСТ») в інтактних та піддослідних тварин. Досліджували вплив тих же фригопротекторів за протоколом попереднього дослідження.

З'ясовано вплив Г г/х (50 мг/кг) і препарату порівняння АСК (25 мг/кг) на інтенсивність ПОЛ та стан АОС в умовах ГЗО у білих щурів. На моделі ГЛХТ з'ясовано вплив Г г/х (50 мг/кг) і препаратів порівняння «Глюкозамін-С БХФЗ» (82,5 мг/кг) та АСК (25 мг/кг) на інтенсивність ПОЛ та стан АОС у білих щурів. Через 40 хв після ХТ та вимірювання ректальної температури щурів декапітували під тіопенталовим наркозом, отримували сироватку крові та печінку для біохімічних досліджень. Антиоксидантні властивості досліджуваних засобів вивчали за зміною вмісту продуктів ПОЛ: ДК, ТБК-реактивів, а також активності АОС: супер-оксиддісмутази (СОД), каталази в сироватці крові та гомогенаті печінки щурів після експериментального ЗГО та ГЛХТ. Рівень ПОЛ оцінювали шляхом визначення концентрації ТБК-АП (метод ґрунтується на здатності продуктів ПОЛ утворювати комплекси з тіобарбітуровою кислотою) спектрофотометрично за допомогою набору фірми «ТБК-АГАТ» (Україна). Використано спектрофотометр СФ-26.

У регуляції чутливості організму до дії холоду беруть участь адрено- та холінореактивні системи (Азов О. А., 2008). Тому з'ясовували участь адрено- та холінорецепторів у механізмі фригопротекторної дії Г г/х при окремому та спільному застосуванні з $\beta_{1,2}$ -адреноблокатором (пропранолол (табл. «Здоров'я», 4 мг/кг), α_1 -адрено-блокатором (доксазозин (табл. «ДЗ ДНЦЛЗ», 10 мг/кг), α_2 -адреноміметиком (клонідин (табл. «Дарниця ФФ», 10 мкг/кг) та М-холіноблокатором (атропіну сульфат (розчин, «ДЗ ДНЦЛЗ», 1 мг/кг) в умовах ГЗО у мишей. Досліджувані аналізатори вводили у вигляді водного розчину в/о в профілактичному режимі за 30 хв до ХТ. Тварини були розділені на групи відповідно до препарату, який вони отримували. Група 1 – контроль (ХТ); група 2 – Г г/х 50 мг/кг, в/о + ХТ; група 3 – атропіну сульфат в/о + ХТ; група 4 – атропіну сульфат + Г г/х в/о + ХТ; група 5 – пропранолол в/о + ХТ; група 6 – пропранолол + Г г/х в/о + ХТ; група 7 – клонідин в/о + ХТ; група 8 – клонідин в/о + Г г/х в/о + ХТ; група 9 – доксазозин в/о + ХТ; група 10 – доксазозин + Г г/х в/о + ХТ. Використані дози тестувальних препаратів забезпечують відповідні адрено- та холінотропні ефекти (Штриголь С. Ю., 2007, Мирюк М. И., 2020). При виборі ефективної фригопротекторної дози Г г/х (50 мг/кг) орієнтувались на результати попередніх досліджень. Критеріями ефекту служили час життя тварин та показник фригопротекторної активності (%).

З'ясування впливу дієтичної добавки «Глюкозаміну-С БХФЗ» на фізичний та психологічний стан організму курсантів в умовах впливу холоду під час зимових польових навчань. У дослідженні впливу дієтичної добавки «Глюкозамін-С БХФЗ» брали участь на добровільних засадах 34 здорові курсанти НАНГУ (чоловіки віком 19-25 років), які проходили польові навчання протягом 2 тижнів у лютому 2018 р., де постійно зазнавали впливу низької температури довкілля (від -2 °С до -19 °С). Курсанти дали інформовану згоду на участь у дослідженні. Стан здоров'я оцінювали за показниками температури тіла, АТ, ЧСС, загального аналізу крові, динамометрії. Для аналізу здатності до концентрації уваги, стійкості та виснаженості використовували коректурну пробу (КПр). Ці показники вимірювали до початку та на 14 добу дослідження (в останній день навчань). Курсанти були розподілені методом випадкового вибору на 2 групи: група 1 – 18 курсантів (приймали «Глюкозамін-С БХФЗ» по 2 капсули 2 рази на добу); група 2 – 16 курсантів (приймали в тому ж режимі плацебо – капсули такого ж вигляду без вмісту). Під час дослідження реєстрували кількість випадків гострих респіраторних захворювань (ГРЗ), яким сприяє вплив низької температури.

Статистичну обробку результатів виконано із використанням пакету програм STATISTICA 6.0 із розрахунком середнього, його стандартної похибки, довірчого інтервалу (р). Для з'ясування міжгрупових відмінностей у випадку нормального розподілу вибіркового даних використовували t-критерій Стьюдента (при попарних порівняннях) або однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA. За відсутності нормального розподілу використовували U-критерій Манна-Вітні. Внутрішньогрупові відмінності оцінювали за парним T-критерієм Вілкоксона. При обліку результатів у альтернативній формі (наявність/відсутність ознаки) використовували кутове перетворення Фішера (ϕ^*). Закономірності зв'язку між

окремими показниками аналізували за коефіцієнтом кореляції Спірмена (ρ) (Мастицкий С. Э., 2009).

Результати та їх обговорення. *Скринінг низки засобів на фригопротекторну активність.* При дослідженні 13 потенційних фригопротекторів природного та синтетичного походження вперше визначено, що 8 препаратів та субстанцій, а саме Г г/х, «Глюкозамін-С БХФЗ», АСК, «Корвітин», «Ліпофлавіон», «Ліпін», аскорбінова кислота, екстракт родіоли рідкий статистично значуще збільшують час життя тварин в умовах ГЗО, тобто виявляють фригопротекторну активність у межах від 16,7 % до 76,4 %. Найбільш ефективним є Г г/х у дозі 50 мг/кг – фригопротекторна активність склала 76,4 %, а у «Глюкозаміну-С БХФЗ» в еквівалентній за Г г/х дозі 82,5 мг/кг – 33 %. Визначено найбільш виразні фригопротекторні властивості АСК у дозах 25 мг/кг (43,8 %) і 50 мг/кг (73,5 %).

Вперше виявлено фригопротекторну активність препаратів кверцетину «Ліпофлавіону» (57,8 %) та «Корвітину» (16,7 %), а також «Ліпіну» (59,2 %), етилтіобензімідазолу (20,9 %), які можуть стати об'єктом подальших досліджень у цьому напрямі. Препарат «Дона» (глюкозаміну сульфат) на етапі скринінгу в дозі 50 мг/кг не виявив фригопротекторної активності, можливо, за рахунок меншої біодоступності порівняно з Г г/х.

Результати скринінгу дають підставу обрати для подальших поглиблених досліджень фригопротекторної дії Г г/х у дозі 50 мг/кг у зіставленні з АСК у дозі 50 мг/кг як найефективнішим препаратом з групи НПЗП (Назаренко Н. А., 2001) та «Глюкозаміном-С БХФЗ» у дозі 82,5 мг/кг, а в окремих дослідах – з іншим препаратом порівняння відповідно до профілю його фармакологічної активності.

Поглиблені дослідження перебігу ХТ і фригопротекторної дії виявили статеві відмінності чутливості до холодової травми на моделі ГЗО у мишей. Так, у групі самок час виживання при загальному охолодженні статистично значуще (у середньому на 21 %, $p < 0,01$) перевищував відповідний показник самців. Встановлені статеві відмінності чутливості тварин до ХТ необхідно враховувати при виконанні експериментальних досліджень фригопротекторних властивостей.

Вплив лідерів скринінгу на перебіг холодового стресу. Двогодинне перебування щурів при температурі $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ викликає у щурів стрес-реакцію, яка характеризується триадою Сельє: вірогідним збільшенням МК наднирників, зменшенням МК тимуса, вірогідним зростанням частоти виразкоутворень на 50 % та гіперемії слизової оболонки шлунка на 83,3 % ($p < 0,05$) відносно показників групи ІК (табл. 1). АСК зменшувала зміни маси тимусу та наднирників, але не покращувала стан шлунка. «Глюкозамін-С БХФЗ» та особливо Г г/х сприяли зниженню виразкоутворень та гіперемії слизової оболонки відносно показників групи АСК та КП через 2 год після холодового впливу, вірогідно знижували МК наднирників на 2 добу після ХТ відносно показників групи КП ($p < 0,05$).

На тлі ГЗО у групі КП виявлено виразну гіпертрофією клубочкової та пучкової зони кори наднирників. На 2 добу дослідження у групі КП та АСК зберігається вірогідне збільшення маси наднирників ($p < 0,05$) відносно показника групи ІК, що свідчить про тривалу стрес-реакцію. Гіпертрофія пучкової зони у групі

КП є наслідком збільшення площі клітин цієї зони, що свідчить про функціональну напругу, яка пов'язана зі стимуляцією продукції глюкокортикоїдів.

Таблиця 1

**Стреспротекторний ефект субстанції Г г/х, дієтичної добавки
«Глюкозамін-С БХФЗ» та АСК на моделі гострої загальної ХТ
через 2 год після ГЗО**

Група тварин	n	Коефіцієнт маси наднирників	Коефіцієнт маси тимусу	Шлунок	
				Частота виразкоутворень, %	Частота гіперемії слизової оболонки, %
ІК	6	0,009±0,001	0,142±0,018	0%	0%
КП	6	0,018±0,001 *	0,108±0,004	50% *^	83,3% *^
ХТ+АСК, 25 мг/кг	6	0,013±0,001 *#	0,127±0,009 ^	33,3% *^	100% *^®
ХТ+ «Глюкозамін-С БХФЗ», 82,5 мг/кг	6	0,012±0,001 #	0,138±0,010 #	16,7%	50% *
ХТ+Г г/х, 50 мг/кг	6	0,013±0,001 *#	0,176±0,015 #	0%	33,3% *

Примітка. Статистично значущі відмінності ($p < 0,05$): * – щодо показників групи ІК; # – щодо показників групи КП; ^ – щодо показників групи ХТ + Г г/х; ® – щодо показників групи ХТ + «Глюкозамін-С БХФЗ».

Активація кори наднирників у групі КП супроводжується змінами її судинної системи: розширенням та повнокров'ям капілярів, а також деліпоїдізацією кортикоцитів, активацією хромафінних клітин (рис. 2а-в). На тлі АСК зберігались порушення гістоструктури (рис. 2 г). Г г/х та «Глюкозамін-С БХФЗ» позитивно впливали на гістоструктуру наднирників щурів з гострою ХТ, обмежуючи стресову реакцію, відновлюючи параметри клітин пучкової зони, стабілізуючи функціональну активність кортикоцитів пучкової зони (рис. 2 д, е).

Таким чином, профілактичне введення Г г/х та «Глюкозаміну-С БХФЗ» порівняно з АСК максимально нормалізують масу тимуса, наднирників, слизової оболонки та виявляють позитивний вплив на морфофункціональний стан наднирників у щурів за умов холодного стресу. Це свідчить про позитивну роль стреспротекторних властивостей ефективних фригопротекторів при ХТ.

Вплив потенційних фригопротекторів на стан ЦНС після ХТ. У ранньому відновному періоді після ГЗО миші групи КП у тесті відкритого поля характеризувалися статистично значущим зниженням рухової ($p < 0,05$) та орієнтовно-дослідницької активності ($p < 0,05$), тенденцією до зниження емоційної

активності відносно групи ІК. Отже, на тлі ГЗО спостерігали комплекс неврологічних порушень.

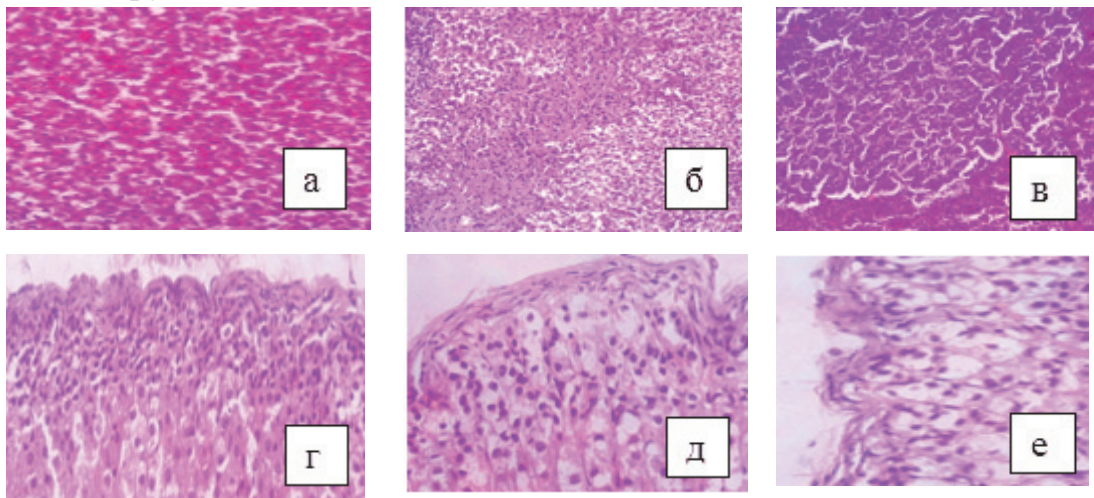


Рис. 2 Гістоструктура наднирників щурів на 2 добу після ГЗО. Група модельної патології: а – загальне зменшення вакуолізації кортикоцитів, б – деліпідизація в пучковій зоні, в – виразне підвищення функціональної активності хромафінних клітин; група АСК (г) – дезорієнтація та розволокнення сполучнотканинних волокон капсули в клубочковій зоні; група «Глюкозаміну-С БХФЗ» (д) – стан капсули та клітин клубочкової зони кори не змінено; група Г г/х (е) – нормальний структурний рисунок та функціональний стан кортикоцитів клубочкової зони кори. Гематоксилін-еозин. *200-375

Субстанція Г г/х та етилтіобензімідазол, який взято для порівняння як класичний актопротектор, значно покращували показники локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності тварин. Загалом, сума всіх показників на тлі застосування етилтіобензімідазолу та Г г/х збільшилась порівняно з показником групи КП в 1,9 та 2,4 разу відповідно ($p < 0,05$). На тлі застосування препарату порівняння АСК максимально знижувались показники локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності. За сумою всіх активностей препарат порівняння АСК поступається субстанціям лідерам Г г/х та етилтіобензімідазолу.

За результатами тесту стрижня, що обертається, експериментальне ГЗО майже не спричиняє зниження тонуусу скелетних м'язів та координації рухів у тварин груп КП. Етилтіобензімідазол на показники тесту не вплинув. Проте на тлі Г г/х координація рухів, навпаки, покращалась і навіть дещо перевищила показник ІК. Крім того, досліджуваний показник у групі Г г/х був статистично значуще краще за такий у групі АСК ($p < 0,05$). Отже, Г г/х максимально покращував координацію рухів і м'язовий тонус, переважаючи етилтіобензімідазол. АСК достовірно погіршувала показники цього тесту.

При вивченні фізичної витривалості мишей після ГЗО у тесті плавання з навантаженням виявили достовірне ($p < 0,05$) зменшення тривалості плавання у групі КП на 37,4 % щодо групи ІК. Під впливом Г г/х цей показник був достовірно вище на 38,7 % за такий на тлі препарату порівняння АСК.

Таким чином, Г г/х у всіх трьох тестах виявив кращий відновний вплив на

функціональний стан ЦНС та фізичну витривалість тварин після ГЗО, ніж АСК та етилтіобензімідазол. АСК не покращувала функціональний стан ЦНС та фізичну витривалість у відновному періоді після ХТ, поступаючись Г г/х за якістю фригопротекторної дії.

Вплив фригопротекторів на стан внутрішніх органів і шкіри за ГЗО. У відновному періоді після ГЗО спостерігається тенденція до збільшення діурезу, протеїнурія та глюкозурія у досліджених групах відрізнялась незначно, але у групі КП порушувалась концентраційна функція нирок. Після ГЗО типовий від'ємний зв'язок між діурезом і вмістом креатиніну значно слабшає в групі мишей КП, а між діурезом і вмістом сечовини стає аномально додатним (рис. 3). Г г/х найсуттєвіше відновлює від'ємну кореляцію між об'ємом сечі та вмістом у ній креатиніну та сечовини: коефіцієнти кореляції наближаються або перевищують такі в інтактних тварин. Спостерігається лише тенденція до відновлення цих зв'язків при введенні тваринам «Ліпін» та АСК (рис. 3).

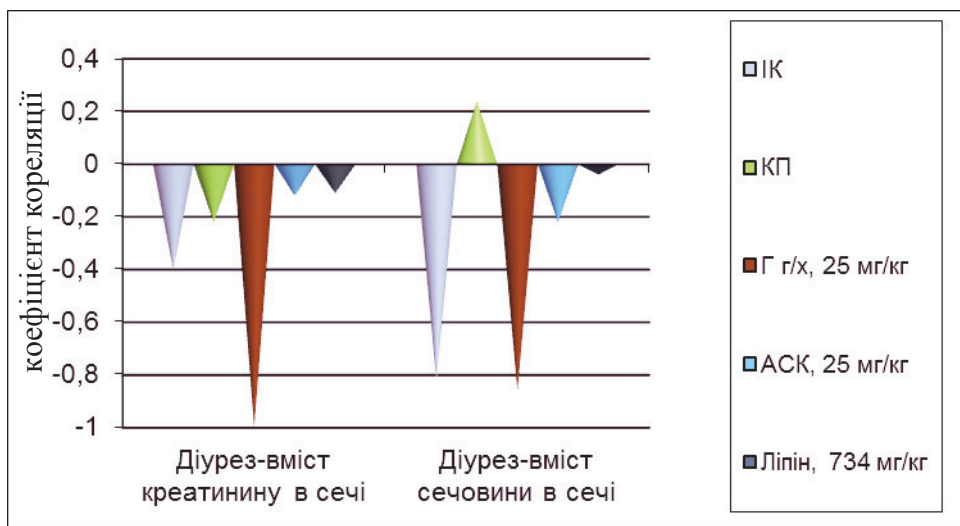


Рис. 3 Стан концентраційної функції нирок і вплив на неї фригопротекторів у ранньому відновному періоді після гострого загального охолодження у мишей за даними кореляційного аналізу

Отже, при профілактичному введенні субстанція Г г/х (25 мг/кг) значно поліпшує концентраційну функцію нирок після ХТ. «Ліпін» (734 мг/кг), який має виразну нефропротекторну дію (Горошко О. М., 2010), та АСК (25 мг/кг) виявляють лише тенденцію до відновлення функціонального стану нирок порівняно з показниками тварин групи КП (рис.3).

На тлі гострої ХТ у щурів групи КП знижувались ректальна температура (на 4,1 °С, $p < 0,05$) та АТ (табл. 2), розвивалась брадикардія, зростала тривалість інтервалу QT та підвищувався вольтаж зубця T, подовжувалась електрична систола шлуночків порівняно з показниками групи ІК. Г г/х та «Глюкозамін-С БХФЗ» знижували ступінь гіпотермії ($p < 0,05$) та на відміну від АСК нормалізували АТ.

Г г/х краще за «Глюкозамін-С БХФЗ» сприяв нормалізації ЕКГ та вірогідно зменшував систолічний показник (35 ± 1 % проти 42 ± 2 % у групі КП, $p < 0,05$), що свідчить про збільшення скоротливості серця. АСК не збільшувала температуру

тіла, не усувала порушень ЕКГ за виключенням нормалізації тривалості інтервалу QT відносно показника групи ІК.

Таблиця 2

Показники артеріального тиску (мм рт. ст.) у щурів після гострої холодової травми під впливом потенційних фригопротекторів

Група	Артеріальний тиск, мм рт. ст.		
	систоличний	діастолічний	середній
ІК, n=6	116,3±4,75	97,3±6,14	103,2±5,36
ХТ, n=6	88,0±7,8*	65,3±7,14*	72,0±6,8*
ХТ + АСК, 25 мг/кг, n=6	101,3±6,0	81,7±9,4	86,5±7,9
ХТ + «Глюкозамін-С БХФ3», 82,5 мг/кг, n=6	109,8±2,23#	88,0±6,41#	93,2±5,5#
ХТ + Г г/х, 50 мг/кг, n=6	110,8±2,32#	98,0±2,49#	102,2±2,2#

Примітка. Статистично значущі відмінності ($p < 0,05$): * – щодо групи ІК; # – щодо групи КП.

Під впливом АСК та «Глюкозаміну-С БХФ3» мала місце лише тенденція до зниження СП. Ці результати вказують, що серед досліджених фригопротекторів лише Г г/х забезпечує позитивний інотропний ефект при ХТ.

В умовах ГЗО змінюється кореляція між температурою тіла та ЧСС: у групі КП з'являється середньої сили зворотний зв'язок ($\rho = -0,658$), тоді як у групі ІК він сильний прямий ($\rho = 0,943$). У групі АСК виявлено тенденцію до відновлення зв'язку між температурою та ЧСС ($\rho = -0,344$), а під дією «Глюкозаміну-С БХФ3» цей зв'язок стає зворотним слабким ($\rho = -0,250$). Тільки Г г/х є єдиним фригопротектором, який відновлює типовий прямий кореляційний зв'язок між температурою тіла та ЧСС ($\rho = 0,573$), що свідчить про нормалізацію фізіологічного контролю ЧСС в умовах гіпотермії.

На моделі ГЗО на шкірі хвоста щурів виникали морфологічні ознаки відмороження 1 та 2 стадії у вигляді поверхневих структурних змін епідермісу та ексудативних явищ (рис. 4 а-в).

Як Г г/х, так і «Глюкозамін-С БХФ3» при ГЗО чинили більший позитивний вплив на морфологічний стан шкіри щурів порівняно з АСК, зменшуючи виразність запальної реакції (рис. 4 г-е), що доводить переваги препаратів глюкозаміну як фригопротекторів.

Вплив фригопротекторів на стан системи крові за ГЗО. На тлі ГЗО виявлено помірне, але вірогідне зниження вмісту еритроцитів у групах АСК, «Глюкозаміну-С БХФ3» та Г г/х щодо показників групи ІК та КП. Спостерігали тенденцію до зниження гемоглобіну відносно показників групи ІК. Ці дані свідчать про розвиток помірної анемії на тлі ГЗО та віддзеркалюють погіршення загального стану тварин.

Виявлено вірогідне зростання ШОЕ у групах КП, АСК, «Глюкозаміну-С БХФ3» та Г г/х відносно показників групи ІК, що свідчило про розвиток запальної реакції на тлі ГЗО. «Глюкозамін-С БХФ3» та Г г/х сприяли вірогідному ($p < 0,05$)

зменшенню ШОЕ у 1,41 та 1,51 разу проти показників групи КП. Під впливом АСК спостерігали лише тенденцію до зниження цього показника проти КП.

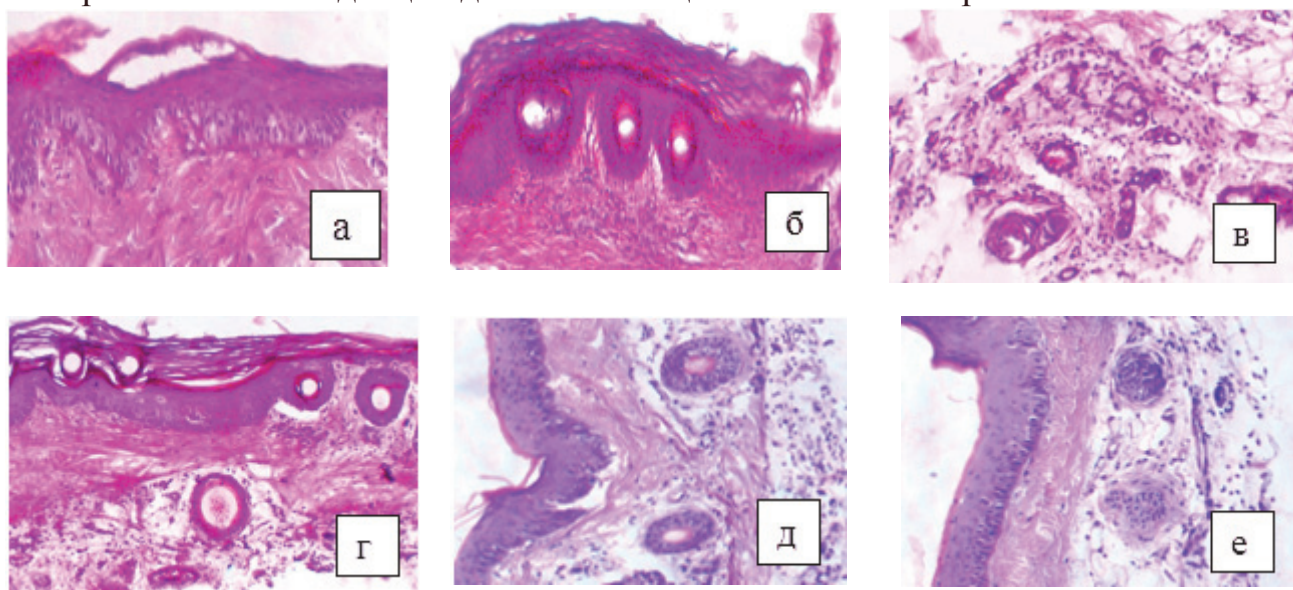


Рис. 4 Гістоструктура шкіри хвоста через 2 доби після ГЗО в групі КП: а – вакуольна дистрофія кератоцитів росткового шару, б – помірна інфільтрація в дермі, в – дифузна круглоклітинна інфільтрація; на тлі введення АСК (г) – гіперкератоз та запальна реакція у дермі та підшкірно-жировій клітковині; на тлі «Глюкозаміну-С БХФ3» (д) та Г г/х (е) – відсутність виразних змін в епідермісі та дермі, помірна запальна реакція у гіподермі шкіри хвоста. Гематоксилін-еозин. *200

У лейкограмі під впливом Г г/х та «Глюкозаміну-С БХФ3» спостерігалось помірне збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів та відносна лімфопенія. Ці зміни лейкоцитарної формули, які спостерігались на тлі нормального вмісту лейкоцитів, можуть свідчити про посилення фагоцитозу в умовах запальної реакції. У групах КП та АСК змін лейкограми не було.

Таким чином, Г г/х та «Глюкозаміну-С БХФ3» на моделі ГЗО виявляють протизапальні властивості, знижуючи ШОЕ. АСК поступається за цим впливом препаратом глюкозаміну.

В умовах ХТ реєструються порушення системи згортання крові, які сприяють тромбозам (рис. 5). Так, у групі КП на 3 добу після ГЗО спостерігали вірогідне зниження часу згортання крові в 2,4 разу, ТЧ в 1,31 разу та АЧТЧ 1,32 разу з одночасним підвищенням ПЧ у 3,6 разу щодо показників групи ІК. Такі зміни вказують на ризик тромбозу судин та розвитку ДВЗ-синдрому.

Під впливом «Глюкозаміну-С БХФ3» та Г г/х на 3 добу експерименту спостерігали статистично значуще зниження часу згортання крові в 1,51 та 1,54 разу відносно показників групи ІК, але цей показник був достовірно ($p < 0,05$) вище порівняно з показниками групи КП. «Глюкозамін-С БХФ3» та Г г/х вірогідно підвищували ПЧ відповідно в 2,14 та 2,16 разу відносно ІК (рис. 5) та вірогідно знижували показники порівняно з КП відповідно у 1,69 та 1,67 разу. На тлі «Глюкозаміну-С БХФ3» та Г г/х відзначено вірогідне зниження АЧТЧ відносно показників групи ІК у 1,16 та 1,15 разу. Зміни ТЧ у цих групах були невірогідними

та наближалися до показників групи ІК. Ці результати свідчать про помірний антитромботичний вплив препаратів глюкозаміну.

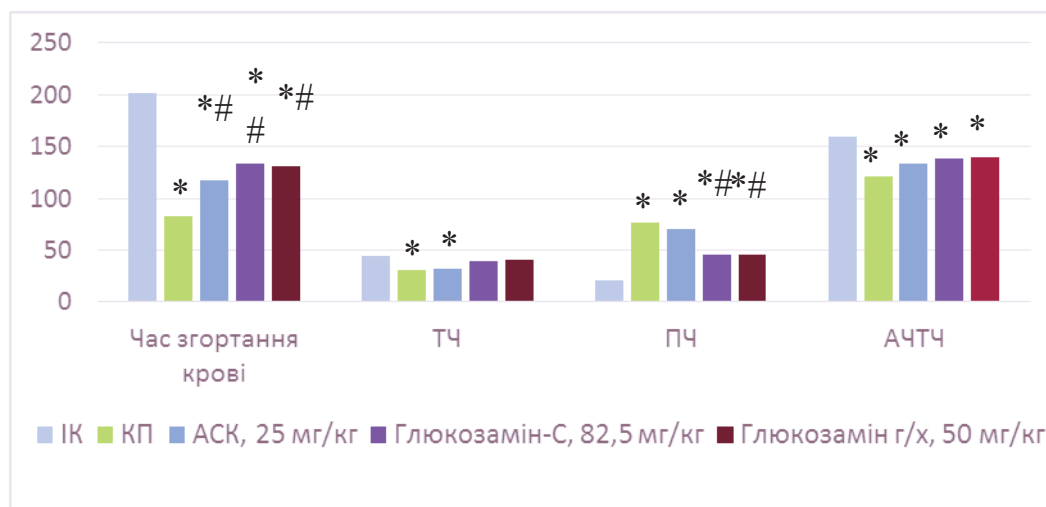


Рис. 5 Показники системи згортання крові у щурів на 3 добу після гострого загального охолодження

Примітка. Статистично значущі відмінності ($p < 0,05$): * – щодо групи ІК; # – щодо групи КП.

«Глюкозамін-С БХФЗ» та Г г/х вірогідно підвищували ПЧ відповідно в 2,14 та 2,16 разу відносно ІК (рис. 5) та вірогідно знижували показники порівняно з КП відповідно у 1,69 та 1,67 разу. Під впливом «Глюкозаміну-С БХФЗ» та Г г/х відзначено вірогідне зниження АЧТЧ відносно показників групи ІК у 1,16 та 1,15 разу. Зміни ТЧ у цих групах були невірогідними та наближалися до показників групи ІК. Ці результати свідчать про помірний антитромботичний вплив препаратів глюкозаміну.

З'ясовано вплив потенційних фригопротекторів на агрегаційну здатність тромбоцитів під впливом Г г/х, «Глюкозаміну-С БХФЗ» та АСК на АДФ- та адреналін-індуковану агрегацію тромбоцитів у щурів при ГЗО (табл.3). У групі КП під впливом ХТ спостерігалось вірогідне підвищення ступеня та швидкості агрегації тромбоцитів – як АДФ- (у 1,7 та 1,6 разу), так і адреналін-індукованої (у 1,7 та 1,9 разу) відповідно щодо ІК (табл.3). Спостерігали вірогідне зниження показників ступеня та швидкості агрегації тромбоцитів під впливом АСК – як АДФ- (у 1,4 та 1,2 разу), так і адреналін-індукованої (у 2,5 та 2,2 разу) відповідно щодо показників групи КП. Під впливом дієтичної добавки «Глюкозамін-С БХФЗ» виявлено вірогідне зниження ступеня та швидкості агрегації при АДФ- (у 1,3 та 1,1 разу) та адреналін-індукованої агрегації тромбоцитів (у 1,1 та 1,3 разу) щодо показників групи КП. Г г/х спричиняє вірогідне зниження ступеня та швидкості агрегації тромбоцитів при АДФ- (у 1,2 та 1,1 разу) та адреналін-індукованій агрегації (у 1,1 та 1,2 разу) проти показників групи КП.

Отже, простежується чітка тенденція до нормалізації швидкості та ступеня агрегації при обох видах її індукції на тлі препаратів глюкоза міну, тимчасом як під

впливом АСК надмірне пригнічення адреналін-індукованої агрегації вказує на значне порушення тромбоцитарної ланки гемостазу при ХТ із ризиком кровотеч.

Таблиця 3

Показники агрегації тромбоцитів (АДФ- та адреналін-індукована агрегація) у щурів після гострої холодової травми під впливом потенційних фригопротекторів

Показники	Групи тварин				
	ІК (n=5)	Холодова травма			
		КП (n=5)	АСК, 25 мг/кг, (n=3)	«Глюкозамін С-БХФ3», 82,5 мг/кг, (n=6)	Г г/х, 50 мг/кг, (n=7)
АДФ-індукована агрегація					
Ступінь агрегації, %	33,12±2,37	56,40±1,79 *	39,20±1,03 #^	43,67±1,72 *#	46,77±2,18 *#
Швидкість агрегації (30 с), %/хв	24,9±1,38	38,66±1,88 *	30,93±1,81 *#	36,05±0,66 *©	36,13±0,65 *©
Адреналін-індукована агрегація					
Ступінь агрегації, %	21,28±1,74	35,38±2,00 *	14,00±0,85 *#^	30,92±0,98 *©	31,89±1,27 *©
Швидкість агрегації (30 с), %/хв	20,82±2,30	39,16±1,03 *	17,63±0,78 #^	31,03±0,74 *#©	32,36±0,85 *#©

Примітка. Статистично значущі відмінності ($p < 0,05$): * – щодо групи ІК; # – щодо групи КП; ^ – щодо групи Г г/х; © – щодо групи АСК.

Вплив потенційних фригопротекторів на перебіг алкогольної інтоксикації та комбінованої алкогольно-холодовій травмі. Перспективний фригопротектор Г г/х у дозі 50 мг/кг при в/ш та в/о введенні виявляє виразний алкопротекторний ефект, зменшуючи кількість мишей, що впали до алкогольного наркозу, та його тривалість на 64,8-68,1 % ($p < 0,05$). На тлі комбінованої алкогольно-холодовій травмі на тлі застосування Г г/х у дозі 50 мг/кг виявлено статистично значуще ($p < 0,05$) збільшення часу життя відносно ІК (на 28,1 %). Доза Г г/х 25 мг/кг була неефективною, а доза 50 мг/кг виявила виразну антиалкогольну дію. АСК у дозі 25 мг/кг на тлі алкогольної інтоксикації за умов ГЗО фригопротекторного ефекту не виявила. Таким чином, Г г/х поєднує антиалкогольну та фригопротекторну властивості, що обґрунтовує доцільність його використання при гострій алкогольній інтоксикації, у т. ч. у поєднанні з ХТ, у той час як АСК за комбінованого алкогольно-холодового ураження втрачає фригопротекторні властивості.

Вплив потенційних фригопротекторів на перебіг ГЛХТ (відмороження). На моделі ГЛХТ на 1 добу досліджень у різних серіях спостерігали порушення

терморегуляції тварин. У групі КП температура тіла знижувалася в середньому на 2,4 °С, у групі АСК на 2,3 °С, у групі «Глюкозаміну-С БХФЗ» – на 2,1 °С та у групі Г г/х – на 2,0 °С ($p < 0,05$). На 3 добу зниження температури тіла змінилось на статистично значуще ($p < 0,05$) підвищення у групах КП, АСК, «Глюкозаміну-С БХФЗ» та Г г/х відповідно на 1,1; 0,9; 1,1 та 0,7 °С проти ІК, що свідчить про розвиток запальної реакції та ендогенної інтоксикації. На 7 добу досліджень відмічено нормалізацію температури під впливом потенційних фригопротекторів майже до рівня ІК, у групі КП вона статистично значуще підвищувалась на 0,8 °С ($p < 0,05$). Це вказує на протизапальні властивості досліджуваних препаратів.

У групі КП відзначено виразну локальну ХТ за критерієм площі уражених ділянок шкіри. Під впливом Г г/х на 10 добу їх площа знижувалась на 5 % ($p < 0,05$), у той час як на тлі дії АСК та «Глюкозаміну-С БХФЗ» вона не зменшувалась.

Після ГЛХТ на 3 добу досліджень у шкірі спини щурів груп КП, АСК, «Глюкозамін-С БХФЗ» та Г г/х виникають морфологічні ознаки відмороження 3 ступеня: некроз епідермісу та дерми, набряк колагенових волокон, тромбози та стази судин, запальна інфільтрація (рис. 6 а-г).

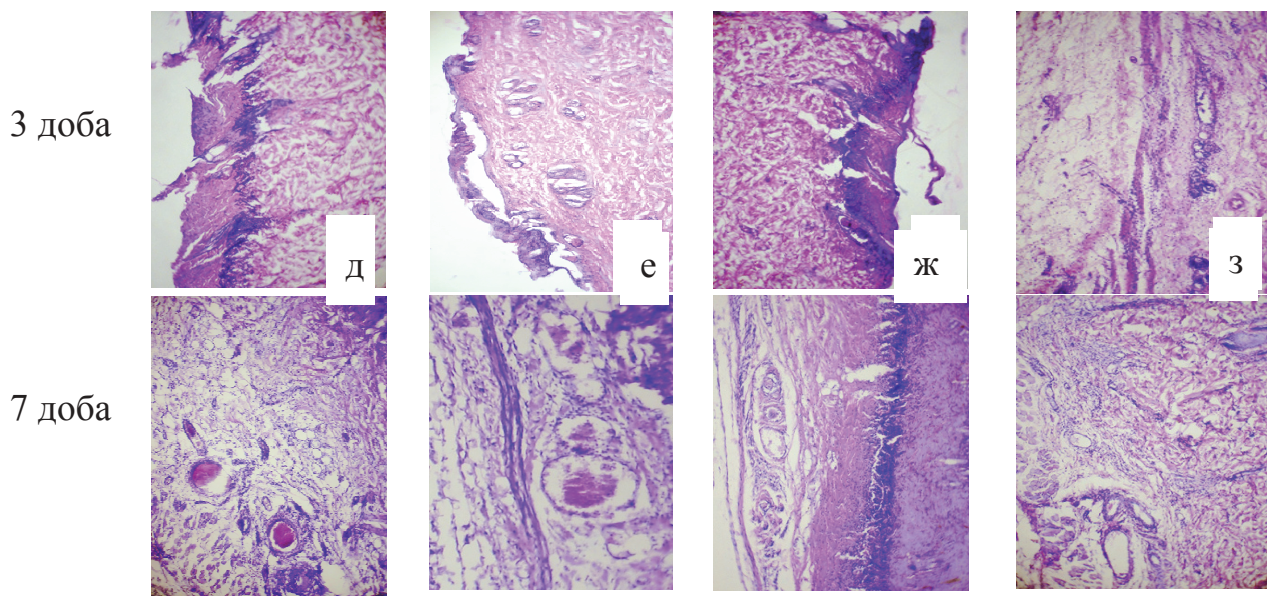


Рис. 6 Гістоструктура шкіри спини щурів на 3-7 добу після ГЛХТ у групах КП (а, д), АСК (б, е), «Глюкозаміну-С БХФЗ» (в, ж) та Г г/х (г,з). На 3 добу: а-в – некроз епідермісу та дерми, набряк колагенових волокон, тромбози та стази судин, запальна інфільтрація; б-в-г під впливом препаратів глюкозаміну менш виразна картина некрозу, набряку колагенових волокон та тромбозів. На 7 добу: група КП (б д) – некрози епідермісу, тромбоз судин, запальна інфільтрація, еритроцитарні стази; група АСК (б е) – некроз епідермісу та дерми, запальна інфільтрація, повнокров'я судин; група «Глюкозаміну-С БХФЗ» (б ж) – некроз епідермісу та дерми, запальна інфільтрація, стази судин; група Г г/х (б з) – розширення судин та запальна інфільтрація. Гематоксилін-еозин. $\times 100$

На 7 добу дослідження під впливом фригопротекторів – «Глюкозаміну-С БХФЗ» та АСК – гістоструктура шкіри відновлюється лише частково (рис.6 е-ж).

Під впливом Г г/х спостерігали більш повне її відновлення, відсутність внутрішньодермальних пухирів та збереження епідермісу. На тлі препаратів глюкозаміну відзначається найменша глибина некрозу на 7 добу досліджень, спостерігаються найменш виразні розлади мікроциркуляції на 3-7 добу. Отримані дані дозволяють узагальнити, що профілактичне введення препаратів глюкозаміну на моделі ГЛХТ позитивно впливає на загоєння шкіри та відновлення її гістоструктури, в той час як АСК поступається за цим впливом.

На моделі ГЛХТ препаратам глюкозаміну притаманні позитивний вплив на поведінкові реакції у тесті відкритого поля та виразні актопротекторні властивості. У групі КП фізична витривалість щурів знижувалась в 1,7 разу за часом примусового плавання з навантаженням. АСК, «Глюкозамін-С БХФЗ» та Г г/х чинили вірогідний ($p < 0,05$) позитивний вплив на цей показник стосовно групи КП. АСК збільшувала час настання втоми в 1,4 разу, «Глюкозамін-С БХФЗ» – у 1,7 разу, Г г/х – у 1,66 разу.

При ГЛХТ у групі КП виявлено зміни гемокоагуляції, а саме статистично значуще ($p < 0,05$) зниження часу згортання крові у 2,1 разу, ТЧ в 1,8 разу та АЧТЧ в 1,2 разу, з одночасним підвищенням ПЧ в 2,3 разу щодо групи ІК. Ці зміни вказують на погіршення реологічних властивостей крові та ризик тромбозу. «Глюкозамін-С БХФЗ» та Г г/х впродовж 10 діб дослідження поліпшують показники коагулограми, що узгоджується з попередніми результатами на моделі ГЗО. АСК не виявляє антитромботичних властивостей на моделі ГЛХТ.

Дослідження механізмів фригопротекторної дії лідера Г г/х. Оскільки важливим метаболітом глюкозаміну є N-ацГА (Зупанець І. А., 2004), ця сполука привертає увагу з точки зору можливої участі в механізмі холодового пошкодження та в реалізації захисного впливу фригопротекторів. Результати експерименту свідчать, що при гострій ХТ (модель ГЗО) рівень ендogenous N-ацГА в печінці, нирках та сироватці крові може бути маркером ступеня пошкодження організму, а також інформативним критерієм ефективності лікування. У групі КП визначено вірогідне зниження вмісту N-ацГА у внутрішніх органах, очевидно, за рахунок руйнування мембранних структур та виходу досліджуваної речовини в кров, де вміст N-ацГА зростає. У тварин групи КП N-ацГА в гомогенаті печінки та нирках вірогідно ($p < 0,05$) знижується відповідно в 1,7 та 1,4 разу на фоні підвищення рівня N-ацГА в сироватці крові в 1,5 разу ($p < 0,05$). Г г/х нормалізував рівень ендogenous N-ацГА: у гомогенаті печінки та нирках щурів він відновлювався, наближаючись до такого в ІК; показники були вище відповідно у 1,5 ($p < 0,05$) та 1,2 разу відносно таких у групі КП. У сироватці крові відзначено тенденцію до нормалізації рівня N-ацГА, який був лише в 1,2 разу нижче такого у групі КП. На тлі препарату порівняння АСК вміст N-ацГА у сироватці крові та гомогенаті нирок майже не відрізнявся від показників групи КП. Г г/х у дозі 50 мг/кг сприяв нормалізації досліджуваного показника в печінці, нирках та сироватці крові, тим самим переважаючи АСК за якістю фригопротекторної дії.

Важливим джерелом метаболічної енергії є вуглеводний обмін, стан якого при ХТ досліджено. Стратегія екстреної адаптації до холодового впливу полягає в гіперглікемії за рахунок посиленого глікогенолізу. Дійсно, у групі КП на тлі

зниження ректальної температури на 17,2 % вміст глюкози в крові зріс на 43,8 % проти показника ІК ($p < 0,05$), а рівень глікогену в печінці зменшився на 47,6 % ($p < 0,05$). При цьому печінкова концентрація лактату збільшилась на 42,2 % ($p < 0,05$) при незмінному вмісті пірувату, і співвідношення лактат/піруват зросло в 1,35 разу. Це свідчить про порушення енергетичного обміну, характерного для гіпоксії, зі зменшенням утилізації лактату печінкою та розвитком лактат-ацидозу. На тлі АСК гіпотермія була дещо менше (температура тіла впала на 15,6 %), як і ступінь гіперглікемії (приріст концентрації глюкози в крові склав 25,4 % проти показника ІК, $p < 0,05$), а виснаження резерву глікогену в печінці було максимальним (на 50,4 %, $p < 0,05$). Вміст пірувату зменшувався, а лактату – зростав на 27,5 %, і коефіцієнт лактат/піруват збільшувався в 2,4 разу, що вказує на значне порушення утилізації лактату. Під впливом Г г/х при найменшому падінні температури тіла (на 13,2 %) рівень глюкози в крові достовірно зростав лише на 23,1 %, а резерв глікогену максимально зберігався (зниження щодо показника ІК на 22,4 %). Принциповою відмінністю від інших груп було зменшення вмісту в печінці як пірувату, так лактату навіть порівняно з показниками ІК. Такий зсув вуглеводного обміну на тлі мінімальної виразності гіпотермії може означати найефективнішу адаптацію організму до холоду під впливом Г г/х, можливо, за рахунок більш ефективного включення пірувату в енергетичний обмін – у цикл трикарбонових кислот через ацетил-КоА. Крім того, тільки на тлі Г г/х спостерігали нормалізацію порушених при ХТ кореляційних зв'язків між температурою тіла та глікемією ($\rho = -0,570$ при $\rho = -0,506$ у групі ІК, $\rho = 0,639$ у групі КП та $\rho = 0,647$ у групі АСК), між температурою тіла та вмістом глікогену в печінці ($\rho = -0,348$ при $\rho = -0,398$ у групі ІК, $\rho = 0,096$ у групі ХТ та $\rho = 0,036$ і групі АСК). Аналогічно лише під впливом Г г/х нормалізувався зв'язок між температурою тіла та лактатом і піруватом.

При вивченні цитокинових механізмів встановлено, що ГЗО у щурів групи КП призводить до статистично значущого підвищення вмісту прозапального інтерлейкіну ІЛ-1 β на 69,6% та зниження рівня протизапального інтерлейкіну ІЛ-10 на 25,2% у крові (табл. 4).

Таблиця 4

Вміст інтерлейкінів ІЛ-1 β та ІЛ-10 у сироватці крові після ГЗО у щурів

Група	n	Вміст у сироватці крові, пг/мл	
		ІЛ-1 β	ІЛ-10
Інтактний контроль (ІК)	6	39,94 \pm 0,35	11,21 \pm 0,18
Контрольна патологія (КП)	6	131,57 \pm 0,73*	8,38 \pm 0,27*
КП+АСК, 25 мг/кг	6	86,63 \pm 0,41*#^	23,81 \pm 0,37*#^
КП+«Глюкозамін-С БХФЗ», 82,5 мг/кг	6	93,80 \pm 0,76*#^	19,77 \pm 0,75*#^
КП+Г г/х, 50 мг/кг	6	36,60 \pm 0,26*#	33,14 \pm 0,60*#

Примітка. Статистично значущі відмінності ($p < 0,05$): * – щодо групи ІК; # – щодо групи КП; ^ – щодо групи Г г/х.

Такі зміни підтверджують розвиток запального процесу при ГЗО. АСК, «Глюкозамін-С БХФЗ» та особливо Г г/х виявляють виразні протизапальні властивості, на що вказує вірогідне ($p < 0,05$) зниження інтерлейкіну ІЛ-1 β відповідно

на 34,2 %, 28,7 %, 72,2 % та підвищення вмісту протизапального ІЛ-10 порівняно з показником КП відповідно на 64,8 %, 57,6 % та 74,7 %. У групі КП між вмістом ІЛ-1 β та ІЛ-10 з'являється сильний прямий зв'язок ($\rho= 0,886$ проти $\rho= -0,319$ у групі ІК), що вказує на компенсаторне посилення синтезу протизапального ІЛ-10 у відповідь на стрімке зростання вмісту прозапального ІЛ-1 β . Під впливом Г г/х характер цих взаємовідносин зберігається ($\rho= 0,543$), тоді як під впливом АСК він інвертується ($\rho= -0,371$), тобто при збільшенні вмісту ІЛ-1 β рівень ІЛ-10 не підвищується. На тлі «Глюкозаміну-С БХФ3» характер зв'язку подібний ($\rho= -0,257$), що може бути пов'язано з модулювальним впливом аскорбінової кислоти на дію Г г/х. Отже, аналіз вмісту про- та протизапальних цитокінів при ХТ та характер кореляційного зв'язку між ними свідчить про регуляторний вплив Г г/х на їх баланс як складову механізму фригопротекторної дії.

З урахуванням викладених вище даних про стреспротекторні властивості ефективних фригопротекторів, які виявлено за критеріями триади Сельє на моделі ГЗО, важливо з'ясувати їх вплив на кортикостероїдну ланку стрес-реакції при ХТ як один із механізмів фригопротекторної дії. Дослід виконано на моделі ГЛХТ. Навіть на 7 добу в щурів групи КП вміст кортизолу в сироватці крові був збільшений в 1,8 разу проти показника ІК. Препарати глюкозаміну, а саме Г г/х, «Глюкозамін-С БХФ3» та меншою мірою АСК на моделі ГЛХТ зменшують цей підвищений рівень кортизолу відповідно на 35 %, 31,5 % та 21,7 % ($p<0,05$), що додатково підтверджує стреспротекторні властивості та доводить участь зниження вмісту кортикостероїдів у крові в механізмі їх фригопротекторної дії. На це вказує і тенденція до нормалізації кореляційного зв'язку між температурою тіла та вмістом кортизолу в крові на тлі Г г/х та «Глюкозаміну-С БХФ3» (відповідно $\rho= 0,152$ і $\rho= 0,203$ при $\rho= 0,406$ у групі ІК), тимчасом як у групі КП $\rho= 0,000$, а в групі АСК $\rho= -0,058$.

З огляду на участь оксидативного стресу в патогенезі ХТ (Глуткин С. В., Зинчук В. В., 2007) досліджено баланс ПОЛ/АОС та вплив на нього фригопротекторів на двох моделях ХТ: ГЗО та ГЛХТ. На моделі ГЗО у групі КП активація ПОЛ виявлялась вірогідним ($p<0,05$) збільшенням рівня ДК та ТБК-реактантів відповідно на 77 % та 66 % у гомогенаті печінки та на 71 % і 117 % у сироватці крові проти показників групи ІК. Компенсаторно підвищувалась активність АОС: СОД – на 23 %, каталази на 88 % у гомогенаті печінки. В сироватці крові ці показники теж зростали: активність СОД на 93 %, каталази – на 103 %. Під впливом фригопротекторів Г г/х та АСК після ГЗО виявлено вірогідне зниження показників ПОЛ та АОС як у гомогенаті печінки, так і в сироватці крові. Так, на тлі Г г/х у гомогенаті печінки рівень ДК зменшився на 55%, ТБК-реактантів – на 46 %, у сироватці крові – відповідно на 20 % та 70 % ($p<0,05$). Активність ферментів АОС вірогідно ($p<0,05$) знижувалась: СОД – на 20 %, каталази – на 108 % у гомогенаті печінки, а в сироватці крові відповідно на 64 % та на 82 % щодо показників групи КП. На тлі застосування АСК показники ПОЛ вірогідно ($p<0,05$) зменшувались проти значень групи КП: ДК – на 21 %, ТБК-реактанти – на 8 % у гомогенаті печінки, у сироватці крові відповідно на 7 % та 28 %. Показники АОС також знижувались: активність СОД – на 14 %, каталази – на 45 % у гомогенаті печінки, у сироватці крові відповідно на 34% та на 4% порівняно зі значеннями групи КП.

Таким чином, антиоксидантний вплив Г г/х та АСК дає підставу вважати його важливою ланкою збільшення опірності до дії холоду, оскільки ПОЛ є типовим механізмом пошкодження клітинних мембран, у т.ч. за ХТ. Антиоксидантні властивості Г г/х є більш виразними, ніж АСК. Їх підтверджено на моделі ГЛХТ, а АСК за цих умов, не зважаючи на максимальну активацію СОД та каталази, не забезпечувала нормалізацію показників ПОЛ.

В умовах ГЗО змінюються кореляційні зв'язки між температурою тіла та показниками інтенсивності ПОЛ. Під впливом Г г/х він нормалізується. Зокрема, кореляція між ректальною температурою та вмістом ДК в крові стає слабкою прямою ($\rho = 0,279$), для ТБК-реактивів – зворотною середньої сили ($\rho = -0,400$), наближаючись до такого у щурів групи ІК. Зв'язок між активністю СОД та каталази в крові залишається сильним додатним ($\rho = 0,738$), як і у тварин групи ІК, що вказує на нормалізацію регуляції балансу ПОЛ/АОС в умовах ГЗО під впливом Г г/х.

До формування холодової резистентності долучаються адренергічні та холінергічні механізми (Ананьев В. Н., 2014). Тому на моделі ГЗО досліджено можливу участь адрено- та холінореактивних систем у механізмі фригопротекторної дії Г г/х за критерієм впливу на тривалість життя мишей (табл. 5).

Таблиця 5

Зміни часу життя та фригопротекторна активність глюкозаміну гідрохлориду на тлі холіно- та адренотропних препаратів в умовах ГЗО у мишей

Групи тварин	Час життя тварин, хв	Фриго-протекторна активність, %
Контроль (ХТ), n=7	76,4±3,72 ^©	–
Г г/х (50 мг/кг, в/о) +ХТ, n=11	103,6±13,0 ^®©	+35,6
Атропіну сульфат (1 мг/кг, в/о) +ХТ, n=7	72,1±2,05 #^©	-5,6
Атропіну сульфат (1 мг/кг) + Г г/х (50 мг/кг, в/о) + ХТ, n=7	73,3±3,64 #^©	-4,0
Пропранолол (4 мг/кг, в/о) +ХТ, n=11	57,7±2,51 *#©	-24,5
Пропранолол (4 мг/кг) + Г г/х (50 мг/кг, в/о) +ХТ, n=11	76,9±6,27 ^©	+0,7
Клонідин (10 мкг/кг, в/о) +ХТ, n=7	66,9±5,98 #©	-12,4
Клонідин (10 мкг/кг, в/о) + Г г/х (50 мг/кг, в/о) + ХТ, n=7	92,4±6,21 *®^©	+20,9
Доксазозін (10 мг/кг, в/о) + ХТ, n=8	34,8±1,92 *#®	-54,5
Доксазозін (10 мг/кг, в/о) + Г г/х (50 мг/кг, в/ч) + ХТ, n=8	35,7±1,30 *#®	-53,3

Примітка. Статистично значущі відмінності ($p < 0,05$): * – щодо показників групи ХТ; # – щодо показників групи ХТ + Г г/х; ^ – щодо показників групи ХТ + пропранолол; ® – щодо показників групи ХТ + клонідин; © – щодо показників групи ХТ + доксазозин.

Блокада М-холінорецепторів атропіном усувала захисний ефект Г г/х, на фоні якого тривалість життя не відрізнялась від контрольного значення. При блокаді β_1 - і β_2 -адренорецепторів пропранололом фригопротекторна дія Г г/х зберігалась, як і на тлі α_2 -адреноміметика клонідину, а α_1 -адреноблокатор доксазозин викликав двократне зменшення часу життя та не давав реалізуватися фригопротекторному ефекту Г г/х. Отже, М-холінореактивні та α_1 -адренореактивні системи залучені до механізмів фригопротекторного ефекту Г г/х, який може виступати у ролі модулятора функціонального стану М-холінорецепторів та α_1 -адренорецепторів. β -Адренореактивні системи, очевидно, не причетні до механізму фригопротекторної дії Г г/х, як і α_2 -адренорецептори. Практичне значення може мати виявлене суттєве зменшення фригорезистентності організму під впливом блокади β_1 - і β_2 -адренорецепторів та α_1 -адренорецепторів, яке сприяє зменшенню відповідно роботи серця і тону судин. Це доцільно враховувати в клінічній практиці.

Вивчення ефективності дієтичної добавки «Глюкозамін-С БХФЗ» в умовах польових навчань у курсантів у зимовий період. Дослідження дієтичної добавки «Глюкозаміну-С БХФЗ» як фригопротектора проведено у курсантів НАНГУ (м. Харків) у зимовий період. У групі 1 на тлі прийому «Глюкозаміну-С БХФЗ» дослідження завершили всі курсанти. Випадків ГРЗ не було, що в порівнянні з даними групи 2 (плацебо) є вірогідним ($p < 0,05$) та свідчить про захисний вплив досліджуваного засобу. Маса тіла не зазнала істотних змін. Температура тіла курсантів цієї групи не змінилася, ШОЕ зросла на 18,2%, що вірогідно менше ($p < 0,01$) порівняно з відповідним показником у групі плацебо. «Глюкозамін-С БХФЗ» не впливав на фізичну силу: відзначено незначне збільшення сили як у правій, так і в лівій руці на 5,6% і 3,2% відповідно порівняно з вихідними даними. Він суттєво не впливав і на стан ССС за винятком помірною збільшення ЧСС з $60,7 \pm 2,0$ до $68,4 \pm 2,2$ уд./хв, що можна розцінювати як адаптивну реакцію на дію низьких температур. У клінічному аналізі крові виявлено вірогідне підвищення рівня лейкоцитів ($p < 0,05$) та незначне збільшення гемоглобіну порівняно з вихідними показниками. Ці значення не виходять за межі фізіологічної норми, а їх помірне зростання може бути пов'язано з фізичними навантаженнями та дією холоду під час дослідження. За результатами КПр у курсантів, що приймали «Глюкозамін-С БХФЗ», відзначали збільшення кількості переглянутих знаків у середньому на 19,8%, що свідчить про поліпшення розумової працездатності. Кількість помилок знизилась на 22,7%, що вказує на поліпшення концентрації уваги.

У групі 2 на тлі прийому плацебо дослідження закінчили 14 курсантів із 16, оскільки 2 (12,5%) захворіли на ГРЗ. У курсантів цієї групи, що завершили дослідження, маса тіла не змінилася. Помірно, але достовірно ($p < 0,05$) збільшились температура тіла (на 0,6%) та ШОЕ (на 34,1%), що вище порівняно з відповідними показниками групи 1. Ці результати свідчать про розвиток запальної реакції у відповідь на тривалий вплив низьких температур. Вірогідно ($p < 0,05$) підвищився рівень гемоглобіну (на 1,4%) щодо вихідних показників. Помітних змін АТ та ЧСС не виявлено. Відзначалось вірогідне зростання м'язової сили як у правій, так і в лівій руці. За результати КПр у групі плацебо меншою мірою, ніж на тлі прийому «Глюкозаміну-С БХФЗ», збільшилась розумова працездатність: кількість

переглянутих знаків зросла в середньому на 11,7%. Кількість помилок на 14 добу зросла на 15,2% проти вихідного рівня. Цей показник достовірно ($p < 0,05$) перевищує такий у групі 1 (де спостерігалось зниження кількості помилок), що вказує на зниження зосередженості, недостатність концентрації уваги у курсантів групи плацебо в ході зимових польових навчань. Результати цієї частини роботи добре узгоджуються з даними експериментальних досліджень фригопротекторних властивостей препаратів глюкозаміну, що наведено вище. Ці дані дають підставу рекомендувати дієтичну добавку «Глюкозамін-С БХФЗ» як фригопротектор при низьких температурах довкілля.

Резюмуючи комплекс отриманих результатів, слід відзначити, що за вперше виявленими фригопротекторними властивостями Г г/х має переваги порівняно з іншими препаратами такої дії, перш за все з відомим фригопротектором АСК. Збільшення опірності до холоду під впливом Г г/х сприятливо відрізняється виразним органопротекторним впливом (зокрема на ЦНС, серце, шлунок, нирки, наднирники, шкіру), що може бути пов'язано з політропним механізмом дії, який сполучає метаболіотропні, протизапальні, гемореологічні ланки. Важливою відмінністю Г г/х від АСК є ефективність при ХТ на тлі алкогольної інтоксикації.

Отримані дані відкривають нові можливості використання препаратів глюкозаміну в лікуванні та профілактиці холодової травми різної етіології та обґрунтують доцільність розширення показань до медичного застосування Г г/х, який наразі використовується переважно як хондропротектор.

ВИСНОВКИ

Поширеність серед населення наслідків холодової травми, що супроводжується високою летальністю, тимчасовою або постійною втратою працездатності, спонукають до поглибленого вивчення зазначеної патології та подальшого удосконалення існуючих та пошук нових методів їх профілактики та лікування. Одним із шляхів вирішення цієї проблеми є впровадження високоефективних лікарських засобів, здатних покращувати перебіг холодкових травм (фригопротекторів). Ці препарати повинні бути безпечними, а також економічно доступними для всіх верств населення. У дисертації наведено вирішення наукової проблеми, пов'язаної з підвищенням ефективності лікування гострого загального охолодження та відмороження. Вперше запропоновано використання глюкозаміну гідрохлориду для профілактики та лікування холодової травми. Виявлено основні механізми фригопротекторної дії глюкозаміну гідрохлориду. Доведено позитивний вплив фригопротектора – дієтичної добавки «Глюкозаміну-С БХФЗ» з багатовекторним механізмом дії – на курсантів Національної академії Національної гвардії України в умовах тривалого перебування під впливом низьких температур. Доведена перспективність подальшого вивчення та створення лікарських препаратів, що містять глюкозаміну гідрохлорид, при різних видах холодової травми.

1. У результаті скринінгу 13 фригопротекторів природного та синтетичного походження визначено, що 8 із них, а саме глюкозаміну гідрохлорид, «Глюкозамін-С БХФЗ», ацетилсаліцилова кислота, «Корвітин», «Ліпофлавіон», «Ліпін»,

аскорбінова кислота, екстракт родіоли рідкий достовірно збільшують час життя тварин в умовах гострого загального охолодження, тобто виявляють фригопротекторну активність у межах від 16,7 % до 76,4 %. Найбільш ефективним виявився глюкозаміну гідрохлорид у дозі 50 мг/кг (фригопротекторна активність 76,4 %), який перевершує глюкозаміну сульфат (15,2 %). Визначено виразні фригопротекторні властивості у ацетилсаліцилової кислоти в дозі 50 мг/кг (73,5 %), дієтичної добавки «Глюкозамін-С БХФ3» (33 %), препаратів кверцетину «Корвітину» (16,7 %) та «Ліпофлакону» (57,8 %), а також «Ліпіну» (59,2 %), які є перспективними як коректори холодової травми. Для подальших поглиблених порівняльних досліджень обрано субстанцію глюкозаміну гідрохлориду, нестероїдний протизапальний препарат ацетилсаліцилову кислоту, дієтичну добавку «Глюкозамін-С БХФ3».

2. Холодова травма викликає стрес-реакцію. За критеріями тріади Сельє «Глюкозамін-С БХФ3» та субстанція глюкозаміну гідрохлориду вірогідно ($p < 0,05$) нормалізують масовий коефіцієнт наднирників, тимусу, зменшують гіперемію слизової оболонки шлунка, зменшують кількість виразкоутворень та крововиливів (у 3,0 та 5,0 разу). Ацетилсаліцилова кислота вірогідно ($p < 0,05$) нормалізує масовий коефіцієнт наднирників та має лише тенденцію до відновлення масового коефіцієнта тимусу, сприяє посиленню гіперемії слизової оболонки шлунка (на 16,7 %) порівняно з показниками групи контрольної патології. Профілактичне введення глюкозаміну гідрохлориду позитивно впливає на гістоструктуру наднирників щурів з гострою холодовою травмою, відновлює параметри клітин пучкової зони, стабілізує функціональну активність кортикоцитів пучкової зони. Препарати глюкозаміну на світлооптичному рівні виявляють позитивний вплив на морфологічний стан наднирників у щурів за умов холодового стресу.

3. Встановлено, що глюкозаміну гідрохлорид у дозі 25 мг/кг покращує стан центральної нервової системи експериментальних тварин у відновному періоді після гострого загального охолодження, а саме виявляє позитивний вплив на поведінку (тест відкритого поля) та за сумою всіх активностей перевищує показники груп ацетилсаліцилової кислоти та актопротектора етилтіобензімідазолу. У тесті стрижня, що обертається, глюкозаміну гідрохлорид перевершує показники груп інтактного контролю, контрольної патології, ацетилсаліцилової кислоти та етилтіобензімідазолу відповідно на 22,9 %, 24,7 %, 42,9 % та 28,6 % за показниками координації рухів та м'язового тону. У тесті примусового плавання з навантаженням після гострого загального охолодження глюкозаміну гідрохлорид за показником тривалості плавання у мишей перевершує показники груп інтактного контролю, контрольної патології, ацетилсаліцилової кислоти та етилтіобензімідазолу відповідно на 18,4 %, 48,9 %, 38,7 % та 15,9 %.

4. За гострої загальної холодової травми глюкозаміну гідрохлорид сприяє вірогідній нормалізації температури тіла щурів 32,8-35,3 °C проти 31,4-34,4 °C у групі контрольної патології ($p < 0,05$) та групи ацетилсаліцилової кислоти 31,9-34,2 °C у різних серіях дослідів. У відновному періоді після гострої холодової травми в групі контрольної патології виявлено погіршення концентраційної функції нирок, зниження систолічного (на 24,3%), діастолічного (на 32,9%) та середнього

артеріального тиску (на 30,2%). «Глюкозамін-С БХФЗ» та глюкозаміну гідрохлорид сприяють достовірному відновленню вищезазначених показників. Глюкозаміну гідрохлорид на відміну від ацетилсаліцилової кислоти та «Глюкозаміну-С БХФЗ» статистично значуще ($p < 0,05$) зменшує систолічний показник порівняно з таким у контрольній патології, що вказує на позитивну інотропну дію. Ацетилсаліцилова кислота не нормалізує артеріальний тиск, не впливає на систолічний показник. Препарати глюкозаміну виявляють потужну репаративну дію та позитивно впливають на морфофункціональний стан наднирників та шкіри щурів на відміну від ацетилсаліцилової кислоти, застосування якої не сприяє відновленню порушеної гістоструктури шкіри тварин.

5. У гемограмі щурів з холодовою травмою виявлено помірну анемію (середній вміст еритроцитів $(7,14 \pm 0,17) \times 10^{12}/\text{л}$ проти $(8,12 \pm 0,13) \times 10^{12}/\text{л}$ у контролі) та зростання ШОЕ ($10,60 \pm 0,51$ мм/год проти $2,40 \pm 0,40$ мм/год у контролі). Глюкозаміну гідрохлорид достовірно ($p < 0,05$) зменшує ШОЕ ($7,0 \pm 0,37$ мм/год), що вказує на протизапальні властивості. «Глюкозамін-С БХФЗ» та глюкозаміну гідрохлорид сприяють вірогідній нормалізації ступеню та швидкості агрегації тромбоцитів – як АДФ- ($22,5\%$, $6,8\%$ та 17% , $6,5\%$ відповідно), так і адреналін-індукованої ($12,6\%$, $20,7\%$ та $9,9\%$, $17,4\%$ відповідно) щодо показників групи контрольної патології. Застосування ацетилсаліцилової кислоти у цих умовах може бути небезпечним, оскільки надмірно (на $34,2\%$ та $15,3\%$) пригнічується адреналін-індукована агрегація тромбоцитів, що загрожує кровотечею. Гостре загальне охолодження супро-воджується значущим зниженням часу згортання крові у 2,5 разу, тромбінового та активованого часткового тромбінового часу відповідно у 1,3 разу, що свідчить про ризик розвитку тромбозів та тромбоемболії. Під впливом препаратів глюкозаміну гемореологічні властивості поліпшуються – час згортання крові зростає на $37,6\%$ ($p < 0,05$), активований частковий тромбіновий час знижується відносно показників групи ІК у 1,16 та 1,15 разу. Ацетилсаліцилова кислота за впливом на показники коагулограми не виявила виразних антитромботичних властивостей.

6. Вперше встановлено, що глюкозаміну гідрохлорид у дозі 50 мг/кг чинить потужну алкопротекторну дію, незалежну від шляху введення, за якою майже в 2,5 разу перевищує дію пірацетаму, вірогідно зменшуючи час етанолового наркозу на $33,3\%$ ($p < 0,05$). Під дією глюкозаміну гідрохлориду в дозі 50 мг/кг час життя мишей із гострою холодовою травмою та тлі алкогольної інтоксикації статистично значуще збільшується порівняно з показником контрольної патології у середньому на $28,6\%$, доза 25 мг/кг неефективна. Ацетилсаліцилова кислота виявляє фригопротекторну активність лише на моделі гострого загального охолодження без алкогольної інтоксикації, що свідчить про переваги глюкозаміну гідрохлориду у лікуванні алкогольно-холодової травми.

7. За гострої локальної холодової травми препарати глюкозаміну (глюкозаміну гідрохлорид та «Глюкозамін-С БХФЗ») на всіх етапах дослідження сприяють вірогідній ($p < 0,05$) нормалізації температури тіла щурів щодо показників групи контрольної патології. АСК менш виразно сприяла нормалізації температури тіла. У відновному періоді після локальної холодової травми на тлі всіх досліджуваних

препаратів достовірно відновлюються локомоторна, орієнтовно-дослідницька активність, вегетативний супровід емоційних реакцій у тесті відкритого поля. За позитивним впливом на орієнтовно-дослідницьку активність глюкозаміну гідрохлорид вірогідно ($p < 0,05$) перевершує ацетилсаліцилову кислоту. Препарати глюкозаміну сприяють достовірному збільшенню фізичної витривалості тварин, переважаючи ацетилсаліцилову кислоту в тесті плавання з навантаженням в середньому в 1,2 разу. На 10 добу ацетилсаліцилова кислота та «Глюкозамін-С БХФЗ» виявляють тенденцію до нормалізації гемостазіологічних показників, а під впливом глюкозаміну гідрохлориду вищезазначені показники наближаються до рівня інтактного контролю, що свідчить про нормалізацію реологічних властивостей крові та функції печінки. В умовах локальної холодової травми лише глюкозаміну гідрохлорид виявляє потужну ранозагоювальну активність: площа рани за 10 діб зменшується на 5 % ($p < 0,05$) відносно показників вихідного стану. «Глюкозамін-С БХФЗ» зменшує цей показник на 1,5 %, в той час як у групі ацетилсаліцилової кислоти він зростає на 1,2 %.

8. З'ясовано основні ланки механізму фригопротекторної дії глюкозаміну гідрохлориду на моделях загальної та локальної холодової травми. Вперше виявлено, що при гострому загальному охолодженні зменшення рівня ендогенного N-ацетил-глюкозаміну в печінці (на 40 %) та нирках (на 27 %) та підвищення у сироватці крові (на 32 %) є маркером пошкодження та інформативним критерієм ефективності лікування. Глюкозаміну гідрохлорид у дозі 50 мг/кг нормалізує вміст N-ацетил-глюкозаміну в печінці, нирках та сироватці крові. При гострому загальному охолодженні та локальній холодovій травмі глюкозаміну гідрохлорид нормалізує показники вуглеводного обміну та кореляційні зв'язки між ними, а також температуру тіла, в той час як під дією ацетилсаліцилової кислоти спостерігається лише тенденція до їх відновлення. На моделі гострого загального охолодження ацетилсаліцилова кислота, «Глюкозамін-С БХФЗ» та особливо глюкозаміну гідрохлорид виявляють виразні протизапальні властивості, про що свідчить вірогідне ($p < 0,05$) зниження вмісту інтерлейкіну IL-1 β (на 34,2 %, 28,7 % та 72,2 % відповідно) та підвищення вмісту IL-10 (на 65,2 %, 57,6 % та 74,7 % відповідно) в крові щодо показників групи контрольної патології. В умовах стресової реакції на тлі локальної холодової травми глюкозаміну гідрохлорид, «Глюкозамін-С БХФЗ» достовірно ($p < 0,05$) знижують рівень кортизолу у сироватці крові відповідно на 35 % та 31,5 % відносно показника контрольної патології, що є ланкою механізму стреспротекторної дії. Препарати глюкозаміну та меншою мірою ацетилсаліцилова кислота в умовах гострої та локальної холодової травми виявляють антиоксидантні властивості. Глюкозаміну гідрохлорид зберігає фригопротекторні властивості на тлі блокади β_1 - та β_2 -адренорецепторів пропранололом та стимуляції α_2 -адренорецепторів клонідином. В умовах блокади M-холінорецепторів атропіну сульфатом або α_1 -адренорецепторів доксазолином фригопротекторна дія Г г/х не виявляється. Отже, M-холінореактивні та α_1 -адренореактивні системи залучені до механізмів цієї дії.

9. Застосування дієтичної добавки "Глюкозамін-С БХФЗ" в умовах двотижневого впливу низьких температур довкілля під час зимових польових

навчань у курсантів достовірно знижує ризик виникнення гострих респіраторних захворювань (з 12,5 % до 0 %, $p < 0,05$), знижує ШОЕ, про що свідчить про протизапальну дію, покращує адаптацію організму до тривалої дії холодового чинника, у тесті «коректурна проба» підвищує концентрацію уваги (на 19,8 %) та розумову працездатність (на 22,7 %).

10. Результати поглибленого фармакологічного вивчення фармакологічних властивостей препаратів глюкозаміну дозволяють вважати субстанцію глюкозаміну гідрохлориду та «Глюкозамін-С БХФЗ» перспективними фригопротекторами з багатовекторним механізмом дії та здатністю впливати на більшість основних ланок патогенезу холодової травми. За комплексною фригопротекторною дією, а також за рівнем безпеки препарати глюкозаміну вірогідно перевершують відомий фригопротектор ацетилсаліцилову кислоту. Отримані дані відкривають нові можливості щодо використання препаратів глюкозаміну в лікуванні та профілактиці холодової травми різної етіології та є обґрунтуванням доцільності розширення показань до медичного застосування глюкозаміну гідрохлориду, який наразі використовується переважно як хондропротектор.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю. Скринінгове дослідження глюкозаміну гідрохлориду в якості засобу фригопротекторної дії. *Клінічна фармація*. 2010. Т.14 (4). С.47-49. (Особистий внесок – участь в експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та підготовці статті).

2. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю. Вплив глюкозаміну гідрохлориду на стан центральної нервової системи та фізичну витривалість мишей після гострого загального охолодження. *Українській біофармацевтичний журнал*. 2010. №5 (10). С. 60-65. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та оформленні статті).

3. Бондарев Є. В. Статтеві відмінності чутливості мишей до гострого охолодження. *Фармаком*. 2011. №1/2. С.79-81. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та оформленні статті).

4. Бондарев Є. В., Домар Н. А., Штриголь С. Ю. Вплив фригопротекторів на стан видільної функції нирок мишей після гострого загального охолодження. *Фармацевтичний журнал*. 2011. №6. С.49-55. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці статті).

5. Бондарев Е. В., Штрыголь С. Ю., Товчига О. В. Койро О. О., Щекина Е. Г., Штрыголь В. С., Домар Н. А. Новые перспективы нефропротекции. *Буковинський медичний вісник*. 2012. №3 (63), Ч.2. С.35-37. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці статті).

6. Бондарев Є. В. Дослідження глюкозаміну гідрохлориду як засобу фригопротекторної дії при поєднаній алкогально-холодовій травмі. *Фармацевтичний часопис*. 2012. №3 (23). С.140-142.

7. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю. Порівняльна характеристика фригопротекторної дії глюкозаміну гідрохлориду та глюкозаміну сульфату на моделі гострого загального охолодження у мишей. *Фармаком*. 2013. №3. С.63-66.

(Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та оформленні статті).

8. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Бездітко Н. В. Вплив глюкозаміну гідрохлориду на наркотичний сон, спричинений алкоголем, та його захисний ефект при гострому загальному охолодженні на тлі алкогольної інтоксикації. *Український біофармацевтичний журнал*. 2013. №5 (28). С.10-15. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та оформленні статті).

9. Бондарев Е. В., Штрыголь С. Ю. Динамика содержания N-ацетил-глюкозамина у крыс при острой холодовой травме. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2014. Том 12 (3). С.30-32. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці статті).

10. Бондарев Е. В., Штрыголь С. Ю. Экспериментальный анализ роли адрено-и холинорецепторов во фригопротекторном действии глюкозамина гидрохлорида. *Вестник фармации*. 2015. №1 (67). С.78-82. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці статті).

11. Бондарев Е. В. Влияние глюкозамина гидрохлорида и ацетилсалициловой кислоты на показатели углеводного обмена при острой холодовой травме у крыс. *Республиканский научный журнал «Vestnik»*. 2015. №1 (70). С.22-27.

12. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю. Фригопротектори. *Фармацевтична енциклопедія, видання третє, доповнене*. К: Моріон, 2016. С. 1816-1817. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та оформленні статті).

13. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Штриголь Ю. Ю., Шаламай А. С. Фригопротекторний ефект дієтичної добавки «Глюкозаміну С-БХФЗ» та роль її компонентів. *Вісник фармації*. 2016. №2 (86). С.48-50. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та оформленні статті).

14. Бондарев Е. В., Штрыголь С. Ю. Антигипотермические и антиоксидантные свойства глюкозамина гидрохлорида и ацетилсалициловой кислоты в условиях острой холодовой травмы. *Вестник фармации*. 2016. №3 (73). С.92-97. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці статті).

15. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю. Вплив препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти на артеріальний тиск та показники ЕКГ при експериментальній холодовій травмі. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. №6 (56). С.31-36. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці статті).

16. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Зупанець І. А., Отрішко І. А. Агрегація тромбоцитів під впливом препаратів глюкозаміну гідрохлориду та ацетилсаліцилової кислоти при гострій холодовій травмі. *Клінічна фармація*. 2017. Том 21 (1). С. 50-56. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці статті).

17. Бондарев Е. В., Штрыголь С. Ю. Состояние свертывающей системы крови под действием препаратов глюкозамина и ацетилсалициловой кислоты в условиях локальной холодовой травмы. Материалы международной научно-практической конференции «Инновационные достижения в современной фармации и медицине», 21-22 апреля 2017 года, г. Шымкент, Республика Казахстан. *Республиканский*

научный журнал «Vestnik», №2 (79). С.30-36. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці статті).

18. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Дроговоз С. М., Лар'яновська Ю. Б. Вплив препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти на гістоструктуру шкіри щурів після гострої холодової травми. *Запорожский медицинский журнал*. 2018. Том.20, №4 (109). С.568-573. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці статті).

19. Бондарев Є. В. Фригопротекторні та антиоксидантні властивості препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти в умовах гострої локальної холодової травми. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. №1 (54). С.18-24.

20. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Горбач Т. В. Вміст інтерлейкінів ІІ-1β та ІІ-10 у крові при гострій холодовій травмі у щурів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2018. №1 (57). С.21-25. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці статті).

21. Бондарев Е. В., Штрыголь С. Ю., Дроговоз С. М., Скрипка А. О., Товма Л.Ф., Морозов И. Е. Защитные свойства диетической добавки «Глюкозамин-С БХФЗ» у курсантов в условиях полевых учений в зимнее время. *Вестник фармации*. 2018. №2 (80). С. 64-69. (Особистий внесок – участь в експерименті, проведені коректурної проби у курсантів, узагальненні результатів та підготовці статті).

22. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Лар'яновська Ю. Б. Стреспротекторна дія препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти в умовах гострої загальної холодової травми. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2018. № 6 (61). С. 34-43. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці статті).

23. Бондарев Е. В., Штрыголь С. Ю., Горбач Т. В. Влияние препаратов глюкозамина и ацетилсалициловой кислоты на прооксидантно-антиоксидантный баланс, уровень глюкозы и кортизола в крови крыс на модели острой локальной холодовой травмы. *Вестник фармации*. 2018. № 4 (82). С. 85-91. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці статті).

24. Bondarev Ye. V. Study of the effect of preparations of glucosamine and acetylsalicylic acid on the behavioral reactions and the physical endurance of rats in a model of acute local cold trauma. *Вісник фармації*. 2019. 1 (97). С.53-57.

25. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Синиця В. О., Савенко П. В. Морфологічні зміни шкіри щурів під впливом глюкозаміну гідрохлориду, «Глюкозаміну-С БХФЗ» та ацетилсаліцилової кислоти в умовах гострої локальної холодової травми. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 1 (58). С. 22-29. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці статті).

26. Застосування ліпофлавонону як засобу фригопротекторної дії: пат. 52378 UA на корисну модель / Н. А. Домар, С. Ю.Штриголь, Є. В. Бондарев: заявл. 19.02.2010; опубл. 25.08.2010. – Бюл. № 16. (Особистий внесок – участь в патентному пошуку, експерименті та оформленні патенту).

27. Застосування корвітину як засобу фригопротекторної дії: пат. 52376 UA на корисну модель / Н. А. Домар, С. Ю. Штриголь, Є. В. Бондарев: заявл. 19.02.2010; опубл. 25.08.10. – Бюл. № 16. (*Особистий внесок – участь в патентному пошуку, експерименті та оформленні патенту*).

28. Застосування ліпіну як засобу фригопротекторної дії: пат. 52379 UA на корисну модель / Н. А. Домар, С. Ю. Штриголь, О.Ф. Пімінов, Є. В. Бондарев: заявл. 19.02.2010; опубл. 25.08.2010. – Бюл. № 16. (*Особистий внесок – участь в патентному пошуку, експерименті та оформленні патенту*).

29. Застосування глюкозаміну гідрохлориду як засобу фригопротекторної дії: пат. 96649 UA на винахід / Є. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь, О. Ф. Пімінов, Н. А. Домар: заявл. 19.02.2010; опубл. 25.11.2011 – Бюл. № 22. (*Особистий внесок – участь в патентному пошуку, експерименті та оформленні патенту*).

30. Застосування полентару як засобу фригопротекторної дії: пат. 106373 UA на винахід / Є. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь, О. Я. Міщенко: заявл. 13.12.2011; опубл. 26.08.2014. – Бюл. №16. (*Особистий внесок – участь в патентному пошуку, експерименті та оформленні патенту*).

31. Бондарев Е.В. Актуальность создания и разработки новых лекарственных препаратов фригопротекторного действия. Актуальні питання створення нових лікарських засобів. Всеукраїнська науково-практична конференція студентів та молодих вчених. м. Харків, 21-22 квітня 2010 року. С.306.

32. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю. Експериментальні дослідження глюкозаміну гідрохлориду як потенційного засобу фригопротекторної дії. Фармакологія та лікарська токсикологія: *IV Національний з'їзд фармакологів України*, м. Київ, 10-12 жовтня 2011 року. №5 (24). С.37. (*Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та оформленні тез*).

33. Бондарев Є. В. Експериментальне дослідження глюкозаміну гідрохлориду в якості фригопротекторного засобу при гострій холодовій травмі на тлі алкогольної інтоксикації. *Клінічна фармація: 20 років в Україні: матеріали національного конгресу*, м. Харків. 2013. С.33-34.

34. Бондарев Є. В. Порівняльна характеристика фригопротекторної дії глюкозаміну гідрохлориду та глюкозаміну сульфату на моделі гострого загального охолодження у мишей. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку: матеріали VII науково-практичної Internet-конференції*, м. Харків, 20 листопада 2014 року. С.122-124.

35. Бондарев Є. В. Нефропротекторні властивості глюкозаміну гідрохлориду на тлі гострого загального охолодження. *Науково-практична конференція з міжнародною участю та школою молодих вчених «Фармакологія, фізіологія і патологія нирок, сечовивідних шляхів та водно-сольового обміну»*, м. Харків, 1-3 жовтня 2014 р. С.8-10.

36. Бондарев Е. В. Влияние глюкозамина гидрохлорида и ацетилсалициловой кислоты на показатели углеводного обмена при острой холодовой травме у крыс. *Материалы республиканской научно-практической конференции (с международным участием) «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации»* 13 октября, г.Ташкент. 2015. С.358-359.

37. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю. Експериментальний аналіз ролі адрено- і холінорецепторів у фригопротекторній дії глюкозаміну гідрохлориду. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку: матеріали VIII наук.-практ. конф.*, м. Харків, 26-27 листопада 2015 р. С. 118-119. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці тез).

38. Бондарев Е. В. Фригопротекторы: прошлое и настоящее. *Національний з'їзд фармацевтів України: Фармація XXI століття: тенденції та перспективи: матеріали VIII Національного з'їзду фармацевтів України*, м. Харків, 13-16 вересня, 2016. Том 2. С. 12.

39. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Зупанець І. А., Отрішко І. А. Агрегація тромбоцитів під впливом препаратів глюкозаміну гідрохлориду та ацетилсаліцилової кислоти при гострій холодовій травмі. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку: матеріали IX наук.-практ. конф.*, м. Харків, 23 березня 2017 р. С.187-188. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці тез).

40. Бондарев Е. В., Штриголь С. Ю. Антиоксидантные и антигипотермические свойства глюкозамина гидрохлорида и ацетилсалициловой кислоты в условиях острой холодовой травмы. «Щорічні терапевтичні читання: медикаментозна та немедикаментозна профілактика неінфекційних захворювань: погляд в майбутнє»: *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті академіка Л. Т. Малої, 20 квітня 2017 р./* за ред. Г. Д. Фадєєнко та ін. – Х., 2017. С.38. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці тез).

41. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю. Фригопротекторні властивості глюкозаміну гідрохлориду, «Глюкозаміну-С БХФЗ» та ацетилсаліцилової кислоти за умов гострої холодової травми. *V Національний з'їзд фармакологів України: тези доповідей*, м. Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017 р. Запоріжжя. С.11-12. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці тез).

42. Бондарев Є. В. Вплив препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти на артеріальний тиск за умов експериментальної холодової травми. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича*, м. Харків, 12-13 квітня 2018 року. С.18-19.

43. Bondarev E. V. Antioxidant and Frigoprotective properties of glucosamine preparation and acetylsalicylic acid under conditions of acute local cold trauma. *42nd Annual Conference of Young Scientists Cold in Biology and Medicine*. 2018, May 23-24th 2018 dedicated to the 100th Anniversary of the National Academy of Sciences of Ukraine. Abstract book. Kharkiv. P.42.

44. Бондарев Е. В., Щекина Е. Г., Кудина О. В. Современные и перспективные фригопротекторы на фармацевтическом рынке Украины. *Материалы VI международной научной конференции молодых ученых и студентов, инициированной Фондом Первого Президента Казахстана – Елбасы и Южно-Казахстанской медицинской академией, «Перспективы развития биологии,*

медицины и фармации» 7-8 декабря 2018 года, г. Шымкент, Республика Казахстан. Республиканский научный журнал «Vestnik». №4 (84). Том 7. С.28-29. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці тез).

45. Бондарев Е. В. Содержание интерлейкинов II-1 β и II-10 в сыворотке крови у крыс после острой холодовой травмы. *Материалы VI международной научной конференции молодых ученых и студентов, инициированной Фондом Первого Президента Казахстана – Елбасы и Южно-Казахстанской медицинской академией, «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» 7-8 декабря 2018 года, г. Шымкент, Республика Казахстан. Республиканский научный журнал «Vestnik». №4 (84). Том 7. С.29-30.*

46. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Євлаш В. В., Товма Л. Ф., Скрипка А. О., Морозов І. Є. Новий аліментарний підхід до підвищення опірності організму до холодової травми. *Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція».* м. Харків, 18 жовтня 2018 р. С. 54-56. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці тез).

47. Штриголь С. Ю., Бондарев Є. В., Дроговоз С. М., Скрипка А. О., Товма Л. Ф., Морозов І. Є. Захисні властивості «Глюкозаміну-С БХФЗ» у курсантів в умовах польових навчань у зимовий період. *Збірник тез доповідей науково-практичної конференції “Службово-бойова діяльність Національної гвардії України: сучасний стан, проблеми та перспективи” Секція 3. Наукове забезпечення діяльності тилових підрозділів Національної гвардії України* (<http://nangu.edu.ua>), м. Харків, 29 березня 2018 року. С.46-47. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці тез).

48. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Товма Л. Ф. Глюкозаміну гідрохлорид як засіб збільшення опірності до впливу холоду та підвищення фізичної та розумової працездатності при низькій температурі довкілля. *Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні тенденції та перспективи розвитку фізичної підготовки та спорту Збройних Сил України, правоохоронних органів, рятувальних та інших спеціальних служб на шляху Євроатлантичної інтеграції України»*, м. Київ, 14-15 лютого 2019 року. Національний університет оборони України імені Івана Черняхівського. – К.: НУОУ, 2019. С. 241-242. (Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці тез).

49. Бондарев Є. В. Гістологічні дослідження шкіри щурів під впливом препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти після гострої холодової травми. *Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації : матеріали наук.-практ. internet-конф.*, м. Харків, 22-23 жовтня 2019 р. / редкол. : А. А. Котвіцька та ін. – Х. : НФаУ, 2019. – С. 300-302.

50. Штриголь С. Ю., Бондарев Є. В., Капелька І. Г. Фармакологічні шляхи підвищення витривалості організму до дії низьких температур. *III Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні тенденції та перспективи розвитку фізичної підготовки та спорту Збройних Сил України, правоохоронних органів, рятувальних та інших спеціальних служб на шляху євроатлантичної інтеграції України»*, 21-22 листопада 2019. Національний університет оборони України імені

Івана Черняхівського. – К.: НУОУ, 2019. – С.341-343. (*Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці тез*).

51. Перспективи використання глюкозаміну гідрохлориду як засобу фригопротекторної дії: Інформ. лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 95-2014 / Є. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь, С. М. Бородай. К. : Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2014. 5 с. (*Особистий внесок – участь в експерименті, аналізі даних та підготовці інформаційного листа до видання*).

52. Перспективи використання глюкозаміну гідрохлориду як засобу фригопротекторної дії при поєднаній алкогольно-холодовій травмі: Інформ. лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 94-2014/ Є. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь, С. М. Бородай. К. : Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2014. 5 с. (*Особистий внесок – участь в експерименті, аналізі даних та підготовці інформаційного листа до видання*).

53. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Дроговоз С. М., Щокіна К. Г. Холодова травма: доклінічне вивчення лікарських препаратів з фригопротекторними властивостями. Методичні рекомендації МОЗ України, м. Харків. Національний фармацевтичний університет. 2018. 35 с. (*Особистий внесок – пошук матеріалів, збір даних, узагальненні результатів та оформленні методичних розробок*).

54. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Дроговоз С. М., Щокіна К. Г., Сушков С. В., Оклей Д. В., Бабійчук В. Г. Холодова травма: надання медичної допомоги постраждалим, принципи фармакотерапії. Методичні Методичні рекомендації МОЗ України, м. Харків. Національний фармацевтичний університет. 2018. 35 с. (*Особистий внесок – пошук матеріалів, збір даних, узагальненні результатів та оформленні методичних розробок*).

АНОТАЦІЯ

Бондарев Є.В. Експериментальне обґрунтування оптимізації профілактики та лікування холодової травми засобами метаболітотропної та протизапальної дії. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 «Фармакологія» – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2020.

Дисертація репрезентує результати теоретичного та експериментального обґрунтування доцільності використання препаратів глюкозаміну при різних видах ХТ. Серед 13 потенційних фригопротекторів природного та синтетичного походження 8 препаратів та субстанцій: Г г/х, «Глюкозамін-С БХФЗ», АСК, «Корвітин», «Ліпофлавіон», «Ліпін», аскорбінова кислота, екстракт родіоли рідкий – достовірно збільшують час життя тварин в умовах ГЗО (фригопротекторна активність від 16,7 до 76,4%). Найбільш ефективні Г г/х у дозі 50 мг/кг (фригопротекторна активність 76,4%), «Глюкозамін-С БХФЗ» у дозі 82,5 мг/кг (33%), АСК у дозі 50 мг/кг (73,5%). Глюкозаміну сульфат не має фригопротекторних властивостей. Вперше виявлено фригопротекторну активність у препаратів кверцетину «Ліпофлавіону» (57,8%) та «Корвітину» (16,7%), а також «Ліпіну» (59,2%), етилтіобензімідазолу (20,9%), які є перспективними

фригопротекторами. Доведено позитивний вплив Г г/х та «Глюкозаміну-С БХФЗ» на стан ЦНС тварин після ХТ, зменшення гіпотермії, нормалізацію функції нирок та стану серцево-судинної системи, поліпшення морфофункціонального стану наднирників і шкіри. Г г/х поліпшує гемореологічні властивості, чинить виразну протизапальну, антиагрегантну, протиалкогольну дію. Виявлено механізми фригопротекторної дії Г г/х: нормалізацію рівня N-ацГА в печінці, нирках та сироватці крові (може бути маркером ефективності лікування), позитивний вплив на вуглеводний обмін та його залежність від температури. «Глюкозамін-С БХФЗ» та особливо Г г/х виявляють стреспротекторні властивості, сприяють нормалізації балансу ПОЛ/АОС при ХТ. М-холінореактивні та α_1 -адренореактивні системи залучені до механізмів фригопротекторного ефекту Г г/х. АСК поступається Г г/х за якістю фригопротекторної дії. Дієтична добавка «Глюкозамін-С БХФЗ» позитивно впливає на стійкість до холоду у курсантів під час зимових польових навчань: достовірно знижує ризик виникнення гострих респіраторних захворювань, покращує адаптацію організму до холоду, підвищує концентрацію уваги та розумову працездатність. Отже, препарати Г г/х є перспективними фригопротекторами.

Ключові слова: фригопротектори, глюкозаміну гідрохлорид, ацетилсаліцилова кислота, холодова травма, загальне охолодження, відмороження, механізм дії.

АННОТАЦИЯ

Бондарев Е.В. Экспериментальное обоснование оптимизации профилактики и лечения холодовой травмы средствами метаболитотропного и противовоспалительного действия. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.03.05 «Фармакология» – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2020.

Диссертация представляет результаты теоретического и экспериментального обоснования целесообразности использования препаратов глюкозамина при различных видах ХТ. Среди 13 потенциальных фригопротекторов природного и синтетического происхождения 8 препаратов и субстанций: Г г/х, «Глюкозамин-С БХФЗ», АСК, «Корвитин», «Липофлавон», «Липин», аскорбиновая кислота, экстракт родиолы жидкий – достоверно увеличивают время жизни животных в условиях острого общего охлаждения (фригопротекторная активность от 16,7 до 76,4%). Наиболее эффективны Г г/х в дозе 50 мг/кг (фригопротекторная активность 76,4%), «Глюкозамин-С БХФЗ» в дозе 82,5 мг/кг (33%), АСК в дозе 50 мг/кг (73,5%). Глюкозамина сульфат не имеет фригопротекторных свойств. Впервые выявлена фригопротекторная активность у препаратов кверцетина «Липофлавона» (57,8%) и «Корвитина» (16,7%), а также «Липина» (59,2%), этилтиобензимидазола (20,9%). Доказано позитивное влияние Г г/х и «Глюкозамина-С БХФЗ» на состояние ЦНС животных после ХТ, уменьшение гипотермии, нормализацию функции почек и состояния сердечно-сосудистой системы, улучшение морфофункционального состояния надпочечников и кожи. Г г/х улучшает гемореологические свойства, оказывает выраженное противовоспалительное, антиагрегантное, антиалкогольное действие. Выявлены механизмы фригопротекторного действия Г г/х: нормализация

уровня N-ацГА в печени, почках и сыворотке крови (может быть информативным критерием эффективности лечения), положительное влияние на углеводный обмен и его зависимость от температуры. «Глюкозамин-С БХФЗ» и особенно Г г/х проявляют стреспротекторные свойства, способствуют нормализации баланса ПОЛ/АОС при ХТ. М-холинореактивные и α_1 -адренореактивные структуры вовлечены в механизмы фригопротекторного эффекта Г г/х. АСК уступает Г г/х по качеству фригопротекторного действия. Диетическая добавка «Глюкозамин-С БХФЗ» положительно влияет на устойчивость к холоду у курсантов во время зимних полевых учений: достоверно снижает риск возникновения острых респираторных заболеваний, улучшает адаптацию организма к холоду, повышает концентрацию внимания и умственную работоспособность. Таким образом, препараты Г г/х являются перспективными фригопротекторами.

Ключевые слова: фригопротекторы, глюкозамина гидрохлорид, ацетилсалициловая кислота, холодовая травма, общее охлаждение, отморожения, механизм действия.

SUMMARY

Bondarev E.V. Experimental substantiation of optimization of cold injury prevention and treatment with the preparations targeting metabolism and inflammation. – The manuscript.

The thesis for a Doctor of Pharmaceutical Sciences Degree by the specialty 14.03.05 – «Pharmacology». – National University of Pharmacy of Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv, 2020.

The thesis represents the results of theoretical and experimental substantiation of the expediency of glucosamine preparations use in different types of cold injury (CI). The screening of potential frigoprotectors was performed on the model of acute general cooling (AGC) at $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ in mice. Among 13 potential frigoprotectors of natural or synthetic origin, 8 drugs or substances, namely glucosamine hydrochloride (G h/chl), "Glucosamine-C BHFZ," acetylsalicylic acid (ASA), "Corvitin", "Lipoflavon", "Lipin", ascorbic acid, Rhodiola liquid extract statistically significantly increased the survival time of animals on the model of AGC that is the evidence of frigoprotective activity. The latter was within the range of 16.7–76.4 %. G h/chl at a dose of 50 appeared to be the most effective, and its frigoprotective activity equalled 76.4 %, the corresponding values for "Glucosamine-C BHFZ" equalled 33 % and 73.5 % at doses of 82.5 mg/kg and 50 mg/kg respectively. Glucosamine sulfate did not exert any pronounced frigoprotective properties. For the first time it has been shown that the drugs containing quercetin: "Corvitin" and "Lipoflavon", as well as "Lipin" and ethylthiobenzimidazole substance are the promising frigoprotectors with the activity of 57.8 %, 16.7 %, 59.2 %, 20.9 % respectively. The positive influence of G h/chl and "Glucosamine-C BHFZ" on the CNS state after AGC and acute local CI has been proven. It was shown that they cause the decrease in hypothermia severity, normalization of the excretory renal function and cardiovascular system state, positive influence on the adrenal cortex and skin structure and functioning. Glucosamine

preparations improve blood rheological properties, exert significant anti-inflammatory and antiaggregant properties, reveal a pronounced anti-alcohol action. The study of the mechanisms of action allowed to clarify the influence of the leaders among the promising frigoprotectors on the proinflammatory and inflammatory interleukins (IL-1 β and IL-10 respectively) blood content after AGC in rats. In acute CI, IL-1 β blood level is significantly increased while IL-10 level is reduced, thus indicating the development of the inflammatory process. ASA, "Glucosamine-C BHFZ" and especially G h/chl exerted clear anti-inflammatory properties, as evidenced by a statistically significant decrease in IL-1 β level and an increment in the anti-inflammatory IL-10 content vs. the UC group indices. The level of cortisol in the blood after acute local CI was investigated in rats. G h/chl, "Glucosamine-C BHFZ" and, to a lesser extent, ASA, significantly lowered serum cortisol, confirming the aforementioned pronounced stress-protective properties of glucosamine preparations. G h/chl, "Glucosamine-C BHFZ" and, to a lesser extent, ASA under the conditions of both AGC and local CI (frostbite) contributed to the reliable normalization of lipid peroxidation and the antioxidant defense system markers in relation to the UC data. Notably that G h/chl exhibited more significant antioxidative properties that are involved into the mechanism of frigoprotective action. Blockade of different types of adrenoceptors (β_1 -, β_2 -, α_1 -) increased the sensitivity of the organism to AGC. Blockade of M-cholinoreceptors had almost no effect on the sensitivity to acute CI. The frigoprotective effect of G h/chl was maintained against a background of blockade of β -adrenoreceptors of different types as well as stimulation of α_2 -adrenoreceptors. Under the conditions of M-cholinoreceptors or α_1 -adrenoreceptors blockade, the frigoprotective properties of G h/chl were not realized. Therefore, M-cholinoreactive and α_1 -adrenoreactive structures are involved into the mechanisms of G h/chl frigoprotective effect, which could act as a modulator of the functional state of the mentioned receptors. The influence of "Glucosamine-C BHFZ" on the resistance to cold in cadets was studied at the National Academy of the National Guard of Ukraine (NANGU) during winter field exercises. The dietary supplement "Glucosamine-C BHFZ" under the conditions of two-week exposure to low ambient temperatures during winter field exercises in cadets significantly reduced the risk of acute respiratory diseases, improved the adaptation of the body to long-term exposure to cold, and increased attention to given tasks and mental performance. Thus, the results of in-depth study of glucosamine preparations pharmacological properties substantiate consideration of G h/chl and "Glucosamine-C BHFZ" as promising frigoprotectors with a multi-vector mechanism of action and the ability to influence on the most of the main links of CI pathogenesis. By the criteria of the complex frigoprotective action and safety level glucosamine preparations statistically significantly exceed the standard modern frigoprotective drug ASA. The findings provide new opportunities for the use of glucosamine drugs in the treatment and prevention of CI of different etiologies and allow to extend the indications for G h/chl medical use, which to date has been mainly limited to chondroprotection. The results of the pharmacological

research were implemented in the scientific-pedagogical process of 10 higher education institutions of Ukraine, 1 foreign higher educational institution and Rivne Regional Scientific Medical Library. On the basis of the dissertation materials, 54 scientific papers have been published.

Keywords: frigoprotectors, glucosamine hydrochloride, acetylsalicylic acid, cold injury, general cooling, frostbite, mechanism of action.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АДФ	–	аденозиндифосфат
АОС	–	антиоксиданта система
АСК	–	ацетилсаліцилова кислота
АТ	–	артеріальний тиск
АЧТЧ	–	активований частковий тромбопластиновий час
в/о	–	внутрішньоочеревинно
в/ш	–	внутрішньошлунково
ВП	–	відкрите поле
Г г/х	–	глюкозаміну гідро хлорид
ГЗО	–	гостре загальне охолодження
ГЛХТ	–	гостра локальна холодова травма
ДК	–	дієнові кон'югати
ЕКГ	–	електрокардіограма
ІК	–	інтактний контроль
ІІ-10	–	інтерлейкін-10
ІІ-1 β	–	інтерлейкін-1 β
КП	–	контрольна патологія
КПр	–	коректурна проба
МК	–	масовий коефіцієнт
НАНГУ	–	Національна академія Національної гвардії України
ПВП	–	полівінілпіролідон
ПОЛ	–	пероксидне окиснення ліпідів
ПЧ	–	протромбіновий час
С	–	секунда
СОД	–	супероксиддисмутаза
СП	–	сistolічний показник
ССС	–	серцево-судинна система
ТЧ	–	тромбопластиновий час
ХТ	–	холодова травма
ЦНДЛ	–	центральна науково-дослідна лабораторія
ЦНС	–	центральна нервова система
ЧСС	–	частота серцевих скорочень
ШКФ	–	швидкість клубочкової фільтрації
ШОЕ	–	швидкість осідання еритроцитів
N-ацГА	–	N-ацетилглюкозамін

Підписано до друку 04.09.2020 р. Формат 60×84/16.
Папір офсетний. Гарнітура Times New Roman. Друк цифровий.
Ум. друк. арк. 1,9. Наклад 100 пр. Зам. № б/н.
Надруковано СПД ФО Степанов В. В., м. Харків, вул. Ак. Павлова, 311
Свідоцтво про державну реєстрацію В00 № 941249 від 28.01.2003 р.

