

ФАРМАКОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

ВЛИЯНИЕ МЕКСИДОЛА НА СОДЕРЖАНИЕ ЖЕЛЕЗА В ОРГАНИЗМЕ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕ

Е. М. Важничая, Т. А. Девяткина, Е. В. Мокляк¹

У белых крыс-самцов воспроизводили действие мексидола в норме и при острой кровопотере. Препарат вводили внутривенно в дозе 100 мг/кг однократно интактным животным или крысам после кровопотери. Через 3 и 72 ч исследовали содержание железа (Fe) в плазме крови, костном мозге, печени и селезенке. Показано, что действие мексидола на баланс железа в организме интактных животных сопровождается повышением его содержания в плазме крови, снижением концентрации этого элемента в костном мозге через 3 ч и ее повышением в печени и селезенке через 72 ч. При кровопотере через 3 ч мексидол способствует перераспределению Fe в организме в пользу костного мозга, что, вероятно, является предпосылкой стимуляции эритропоэза. Через 72 ч после кровопотери он увеличивает содержание Fe в плазме крови и селезенке, что может быть связано с ускоренным развитием компенсаторных процессов и возобновлением депонирования этого элемента.

Ключевые слова: мексидол; железо; эритропоэз; кровопотеря.

ВВЕДЕНИЕ

Нарушения обмена железа часто встречаются в клинической практике и проявляются как железодефицитной анемией, так и перегрузкой организма железом при определенных наследственных заболеваниях и массивных гемотрансфузиях [16, 17]. Широко известно, что антиоксиданты, например аскорбиновая кислота, могут применяться в комплексном лечении анемии, влияя на всасывание железа и стимулируя эритропоэз [5]. В то же время вещества-хелаторы, используемые при перегрузке организма железом, закономерно проявляют антиоксидантные свойства [14]. Механизм влияния препаратов на обмен железа в обоих случаях может замыкаться на уровне оксигенации, смещая динамическое равновесие оси гепсидин — эритропоэтин в ту или иную сторону [13]. В этом плане представляет интерес действие мексидола (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината), сочетающего антиоксидантные и антигипоксантные свойства с возможностью связывания железа и миелопротекцией [1, 4, 10]. Исследований, посвященных непосредственному определению показателей метаболизма железа при использовании мексидола, крайне мало. Это определило цель данной работы — изучение влияния мексидола на содержание железа в крови, кроветворных и железодепонирующих органах лабораторных животных в норме и при острой кровопотере.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 59 белых крысах-самцах Вистар массой 200 – 220 г, полученных из питомника “Биомодельсервис” (Киев, Украина) и акклиматизированных к местным условиям. Они проводились с использованием стандартных моделей патологии и обезболивания, отвечающих международным принципам гуманного отношения к лабораторным животным, и не встретили возражений комиссии по биоэтике ВГУЗ Украины “Украинская медицинская стоматологическая академия”.

Было проведено 3 серии экспериментов, в одной из которых (серия 1) мексидол вводили интактным животным (осенне-зимний период), а в 2 других (серии 2, 3) — воспроизводили острую кровопотерю и ее коррекцию мексидолом (летний и осенне-зимний периоды). В серии 1 контролем служили животные, которым внутривенно вводили растворитель (вода для инъекций, 1 мл). Крысам другой группы таким же путем инъецировали 2 % водный раствор мексидола в дозе 100 мг/кг, который готовили *ex tempore* из субстанции этого препарата (ООО “Бион”, РФ). В сериях 2 и 3, как и в серии 1, имелись группы интактных животных, причем при исследовании органов они были объединены для получения достаточной репрезентативности. Кровопотерю в этих сериях моделировали путем забора из сердца 25 % объема циркулирующей крови под ингаляционным наркозом (эфир для наркоза, 3 – 4 мл/кг) [6]. Раствор мексидола (100 мг/кг), приготовленный как описано выше, вводили животным внутривенно непосредственно после кровопотери. Через 3 или 72 ч животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом путем забора крови из

¹ Высшее государственное учебное заведение Украины “Украинская медицинская стоматологическая академия”, Украина, 36011, г. Полтава, ул. Шевченко, 23.

сердца до его остановки, максимально обескровливая крыс.

В плазме крови определяли содержание железа, общую железосвязывающую способность (ОЖСС) и коэффициент насыщения трансферрина железом, используя реакцию с ференом [7]. Исследование выполняли с помощью наборов “Диакон-ДС” (ЗАО “Диакон-ДС”, РФ). Костный мозг бедренной кости извлекали, “выталкивая” его струей воздуха из шприца в пластиковую пробирку. Его массу определяли как разницу результатов взвешивания пробирки до и после помещения в нее органа. Костный мозг, а также точные навески тканей печени и селезенки замораживали при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и использовали для определения в них содержания железа методом атомно-оптико-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой на спектрометре Optima-2100DV (Perkin-Elmer, США) [9]. В основе этого метода находится измерение излучения света на определенных длинах волн атомами исследуемого элемента, возбужденными индуктивно-связанной аргоновой плазмой, которое преобразуется программным обеспечением прибора в количественные показатели элементного состава образца. Полученные данные обрабатывали с помощью стандартных компьютерных программ Statistica for Windows 8.0, оценивая достоверность различий с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с апостериорным тестом Fisher LSD.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание железа в плазме крови, печени и селезенке интактных крыс всех серий находилось в пределах значений, приведенных в литературе и широко варьирующих [12]. В костном мозге бедра этот показатель был несколько ниже, чем описано в источнике [12], что может объясняться особенностями использо-

ванной нами методики отбора и подготовки образцов данной ткани для спектрометрического анализа. Следует также отметить, что имели место достоверные различия отдельных показателей обмена железа интактных крыс между сериями (табл. 1, 2), по-видимому, обусловленные сезонными изменениями интенсивности гемопоэза [8].

Через 3 и 72 ч после введения растворителя интактным животным содержание железа в плазме крови, ОЖСС и коэффициент насыщения трансферрина оставались на уровне показателей интактной группы (табл. 1). В то же время через 3 ч после введения мексидола наблюдали увеличение содержания железа в 1,4 раза ($p < 0,01$) и повышение ОЖСС плазмы крови в 1,3 раза ($p < 0,05$), по сравнению с контролем. Через 72 ч у крыс, которым вводили мексидол, содержание железа в плазме крови было в 1,6 раза ($p < 0,01$) выше, чем в контроле. Это сопровождалось увеличением коэффициента насыщения трансферрина железом ($p < 0,001$) без значимых изменений ОЖСС.

У животных контрольной группы с введением растворителя содержание железа в костном мозге, печени и селезенке не отличалось от такового у интактных крыс (табл. 2). Через 3 ч после инъекции мексидола в костном мозге наблюдали снижение этого показателя в 1,3 раза ($p < 0,01$) по сравнению с контролем на фоне нормального содержания этого элемента в печени и селезенке. Через 72 ч ситуация изменялась. Под действием мексидола содержание железа в костном мозге пребывало на уровне контроля, а в печени и селезенке, повышалось, по сравнению с ним, соответственно в 1,8 раза ($p < 0,05$) и 2,4 раза ($p < 0,001$).

Такой характер изменений баланса железа при использовании мексидола у интактных животных, по-видимому, может объясняться тем, что препарат в ранние сроки после его введения вызывает перераспределение железа в организме, мобилизуя его из миелоид-

Таблица 1. Влияние мексидола на содержание железа, железосвязывающую способность и коэффициент насыщения трансферрина плазмы в норме и после острой кровопотери у крыс ($M \pm m$)

Группа животных	Содержание железа, мкмоль/л		Общая железосвязывающая способность мкмоль/л		Коэффициент насыщения трансферрина, %	
	3 ч	72 ч	3 ч	72 ч	3 ч	72 ч
Серия 1 (интактные животные)						
Интактные ($n = 5$)	26,2 \pm 2,7		55,8 \pm 4,6		47,0 \pm 3,0	
Растворитель ($n = 5/5$)	25,4 \pm 2,3	25,0 \pm 2,1	57,0 \pm 4,2	57,6 \pm 4,2	44,3 \pm 1,6	43,3 \pm 1,7
Мексидол ($n = 5/5$)	36,3 \pm 2,0 ^{1,2}	41,2 \pm 3,9 ^{1,2}	75,2 \pm 6,2 ^{1,2}	68,6 \pm 4,7	49,3 \pm 4,2	59,6 \pm 2,0 ^{1,2}
Серии 2, 3 (после острой кровопотери)						
Интактные ($n = 6/6$)	25,3 \pm 1,7	20,6 \pm 1,5	40,3 \pm 1,8	49,7 \pm 1,3	63,5 \pm 5,4	41,8 \pm 3,7
Кровопотеря + растворитель ($n = 5/5$)	19,5 \pm 2,1	16,8 \pm 0,9	40,9 \pm 1,2	51,1 \pm 2,8	47,5 \pm 4,4 ¹	33,5 \pm 3,0
Кровопотеря + мексидол ($n = 5/5$)	19,0 \pm 2,1	21,0 \pm 1,52	33,5 \pm 1,7 ^{1,2}	41,2 \pm 3,9	58,5 \pm 9,4	51,9 \pm 3,7 ²

Здесь и в табл. 2: в скобках — число животных в сроке 3 ч/72 ч или в объединенной группе по 2 срокам эксперимента;

¹ достоверно по сравнению с интактными животными данной серии;

² достоверно по сравнению с введением растворителя (контроль, серия 1) или с группой “кровопотеря + растворитель” (контрольная патология, серии 2, 3).

ной ткани и повышая содержание в крови. Увеличение коэффициента насыщения трансферрина железом в сочетании с повышением уровня железа в плазме крови и накоплением этого элемента в печени и селезенке через 72 ч, очевидно, свидетельствует о том, что препарат или его метаболиты способны увеличивать запас железа в организме здоровых лабораторных животных, возможно, усиливая его всасывание.

Острая кровопотеря с введением растворителя через 3 ч от момента ее моделирования вызывала снижение коэффициента насыщения трансферрина в 1,3 раза ($p < 0,05$) без существенных изменений содержания железа и ОЖСС плазмы крови (табл. 1). Через 72 ч после кровопотери эти показатели не отличались от аналогичных параметров интактных животных. Отсутствие достоверного снижения содержания железа в плазме крови после кровопотери, по-видимому, связано с его мобилизацией из депо и перераспределением в организме. В период от 3 до 72 ч к этим факторам, очевидно, также присоединяется усиленное всасывание железа.

Через 3 ч после кровопотери у крыс, не получавших мексидол, содержание железа в костном мозге уменьшалось в 2,4 раза ($p < 0,001$), по сравнению с контролем, а в печени и селезенке не отличалось от контроля (табл. 2). Через 72 ч уровень железа в костном мозге оставался ниже показателей для интактных крыс ($p < 0,001$). В печени этот показатель находился на уровне интактного контроля, а в селезенке существенно снижался, по сравнению как с интактной группой ($p < 0,005$), так и с предыдущим сроком наблюдений ($p < 0,001$). Такие сдвиги, очевидно, отражают повышенный расход железа во время напряженного эритропоэза, сопровождающего компенсацию кровопотери [15]. Снижение содержания железа в селезенке через 72 ч может объясняться мобилизацией его запасов в этом органе в фазу костномозговой компенсации кровопотери, когда интенсивность эритропоэза особенно велика [15].

Применение мексидола через 3 ч сопровождалось снижением ОЖСС ($p < 0,01$) без изменений содержания железа и коэффициента насыщения трансферрина железом по сравнению с кровопотерей без фармакокоррекции (табл. 1). Через 72 ч у животных, которым вводили мексидол, наблюдалось увеличение содержания железа в плазме ($p < 0,05$), отмечалась тенденция к снижению ОЖСС в 1,2 раза ($p < 0,1$) и повышение коэффициента насыщения трансферрина железом ($p < 0,005$), по сравнению с контрольной патологией. Обособленное снижение ОЖСС плазмы крови через 3 ч после введения препарата могло бы отражать усиленное поступление железа в кровь в результате его мобилизации из депонирующих органов, однако нами не обнаружено значимых изменений содержания железа в печени и селезенке крыс данной группы. Выявленный феномен трудно объяснить и требует дальнейшего изучения. В то же время изменения, наблюдающиеся в плазме крови через 72 ч после однократного введения мексидола, свидетельствует о том, что, по-видимому, при острой кровопотере он способен ускорять восстановление баланса железа в организме наравне со стимуляцией эритропоэза [3].

Мексидол через 3 ч повышал содержание железа в костном мозге в 1,7 раза ($p < 0,001$) и не влиял на него в печени и селезенке у крыс с кровопотерей (табл. 2). В дальнейшем ситуация изменялась и через 72 ч у животных с введением препарата содержание железа в костном мозге и печени снижалось, а в селезенке возрастало в 4,9 раза ($p < 0,001$).

Таким образом, мексидол быстро увеличивал содержание железа в костном мозге, что, очевидно, следует считать предпосылкой для описанной нами ранее стимуляции препаратом эритропоэза и улучшения основных показателей "красной" крови в последующие сроки компенсаторного периода [2, 3]. Повышение содержания железа в селезенке в позднем сроке наблюдения на фоне нормализации его показателей в крови может быть связано с тем, что под действием мексидо-

Таблица 2. Влияние мексидола на содержание железа в костном мозге, печени и селезенке крыс в норме и при острой кровопотере ($M \pm m$)

Группа животных	Содержание железа, мг/кг					
	костный мозг		печень		селезенка	
	3 ч	72 ч	3 ч	72 ч	3 ч	72 ч
Интактные животные						
Интактные ($n = 6$)	54,3 ± 2,1		85,8 ± 8,8		109,1 ± 11,7	
Растворитель ($n = 5/5$)	53,4 ± 2,2	52,7 ± 2,5	68,1 ± 11,5	90,1 ± 9,7	100,2 ± 12,1	96,2 ± 10,0
Мексидол ($n = 6/5$)	40,7 ± 3,0 ^{1,2}	45,2 ± 3,1	76,7 ± 16,2	162,3 ± 27,9 ^{1,2}	131,4 ± 17,0	233,3 ± 22,9 ^{1,2}
Введение после кровопотери						
Интактные ($n = 9$)	62,6 ± 2,6		51,2 ± 6,7		66,9 ± 6,9	
Кровопотеря + растворитель ($n = 5/5$)	25,8 ± 2,9 ¹	40,3 ± 6,4 ¹	71,4 ± 6,2	38,5 ± 8,3	51,8 ± 8,4	22,9 ± 3,6 ¹
Кровопотеря + мексидол ($n = 5/5$)	44,4 ± 3,6 ^{1,2}	54,2 ± 5,8	58,2 ± 5,0	33,0 ± 3,7 ¹	44,9 ± 5,5	112,1 ± 12,0 ^{1,2}

ла компенсация кровопотери развивается быстрее и через 72 ч уже усиливается его депонирование.

Согласно полученным данным, направленность изменений показателей обмена железа в плазме крови, вызванных мексидолом, через 3 ч была противоположной показателям в норме и при острой кровопотере, но совпала через 72 ч. То же касалось и содержания железа в костном мозге. Сходным было также значительное накопление железа в селезенке крыс без исходных нарушений гомеостаза и у животных с кровопотерей через 72 ч. Это может свидетельствовать о том, что действие мексидола на баланс железа в организме носит регуляторный характер и определяется уровнем железа в организме. С учетом существующих представлений о регуляции всасывания, депонирования и утилизации железа следует предположить, что препарат регулирует гормональную ось гепсидин — эритропоэтин, а не только повышает содержание гепсидина, как описано применительно к больным с наследственной патологией метаболизма железа [11].

Таким образом, проведенные исследования позволяют предположить существование новых особенностей в фармакодинамике мексидола — его регуляторном влиянии на содержание железа в организме, что, отчасти, объясняет протекторное действие препарата при острой кровопотере. Вполне возможно, что снижение мексидолом уровня железа в определенных тканях организма, в том числе в нервной ткани, является одним из механизмов его антиоксидантного и нейропротекторного эффектов. В то же время длительное применение мексидола у больных, очевидно, требует контроля показателей железа, чтобы своевременно компенсировать возможные нарушения его содержания.

ВЫВОДЫ

1. Мексидол (100 мг/кг, внутривенно, однократно) влияет на баланс железа в организме интактных животных: повышает его содержание в плазме крови в 1,4 и 1,6 раза, $p < 0,01$, через 3 и 72 ч, соответственно, снижает концентрацию этого элемента в ко-

стном мозге через 3 ч и повышает в печени и селезенке крыс — через 72 ч.

2. Мексидол (100 мг/кг, внутривенно, однократно) на фоне острой кровопотери у крыс через 3 ч способствует перераспределению железа в пользу костного мозга, а через 72 ч нормализует содержание железа в плазме крови и усиливает его накопление в селезенке в 4,9 раза, $p < 0,001$, по сравнению с контрольными животными.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. Н. Андрусишина, Е. М. Важничая, Е. А. Донченко и др., Патент РФ 2557959 (2015), *Бюл. изобрет.*, № 21 (2015).
2. О. М. Важнича, Н. О. Олійник, Є. В. Мокляк, Патент на корисну модель 32193, Україна (2008); *Бюл. изобрет.* № 9 (2008).
3. Н. О. Власенко, О. М. Важнича, *Фармацевтичний часопис*, № 1(25), 181 – 185 (2013).
4. Т. А. Воронина, *Фарматека*, № 4, 24 – 31 (2009).
5. А. Н. Грацианская, *Фарматека*, № 12, 57 – 60 (2012).
6. *Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації*, О. В. Стефанов (ред.), Київ (2001).
7. В. В. Долгов, В. В. Меньшиков (ред.), *Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство*, Москва (2012).
8. И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк, *Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте*, Киев (1983).
9. *Методические рекомендации 4.1.1482-03* (Минздрав России), Москва (2003).
10. Б. Б. Мороз, Ю. Б. Дешевой, Г. В. Сукоян и др., *Радиационная биология. Радиоэкология*, **49**(1), 90 – 96 (2009).
11. С. П. Щербинина, А. А. Левина, И. Л. Лисовская, Ф. И. Атауллаханов, *Биомед / химия*, **59**(6), 710 – 718 (2013).
12. P. Elford, J. Bouchard, L. Jaillet, et al., *J. Pharm. Tox. Methods*, **68**, 374 – 383 (2013).
13. T. Ganz, E. Nemeth, *Biochim. Biophys. Acta*, **1823**(9), 1434 – 1443 (2012).
14. C. N. Kontoghiorghes, A. Kolnagou, G. J. Kontoghiorghes, *Molecules*, **20**(11), 20841 – 20872 (2015).
15. R. F. Paulson, L. Shi, D. C. Wu, *Curr. Opin. Hematol.*, **18**(3), 139 – 145 (2011).
16. V. G. Sankaran, M. J. Weiss, *Nat. Med.*, **21**(3), 221 – 230 (2015).
17. A. Siddique; K. V. Kowdley, *Aliment. Pharmacol. Ther.*, **5**, 876 – 893 (2012).

Поступила 26.09.16

INFLUENCE OF MEXIDOL ON THE IRON CONTENT IN RAT ORGANISM IN THE NORMAL STATE AND UNDER ACUTE BLOOD LOSS CONDITIONS

E. M. Vazhnichaya, T. A. Devyatkina, and E. V. Moklyak

Ukrainian Medical Stomatological Academy, ul. Shevchenko 23, 36024 Poltava, Ukraine

Mexidol action in the normal state and under the conditions of acute blood loss was studied in albino male rats. The drug was administered intraperitoneally at a single dose of 100 mg/kg to intact animals and those after acute blood loss. After 3 and 72 h, the content of iron (Fe) in the blood plasma, bone marrow, liver, and spleen was investigated. It is established that the action of mexidol on the iron balance in the body of intact animals is accompanied by an increase in Fe content in the blood plasma, a decrease in the concentration of this element in the bone marrow within 3 h and its increase in the liver and spleen in 72 h after administration. In 3 h after the blood loss, mexidol promotes Fe redistribution in the body in favor of bone marrow, which is probably a prerequisite for the stimulation of erythropoiesis. In 72 h after the blood loss, mexidol increases Fe content in the blood plasma and spleen that may be associated with accelerated development of compensatory processes and restoration of the depot of this element.

Keywords: mexidol; iron; erythropoiesis; blood loss.