

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ М.І. ПИРОГОВА МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Семененко Святослав Ігорович

УДК: 616.831-001.4/.31:615.216.8:612.08

ДИСЕРТАЦІЯ

**Фармакологічне обґрунтування використання модулятора
NMDA-рецепторів в якості церебропротектора при черепно-мозковій
травмі (експериментальне дослідження)**

222 «Медицина»

«22 – Охорона здоров'я»

14.03.05 – фармакологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ С.І. Семененко

Вінниця – 2024

АНОТАЦІЯ

Семененко С.І. Фармакологічне обґрунтування використання модулятора NMDA-рецепторів в якості церебропротектора при черепно-мозковій травмі (експериментальне дослідження) – кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора наук з галузі знань 222-«Медицина», спеціальність 14.03.05 – «Фармакологія». Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Вінниця, 2024.

Мета роботи: експериментальне обґрунтування підвищення ефективності первинної церебропротекції при черепно-мозковій травмі, шляхом застосування модулятора поліамінового сайту NMDA-рецепторів адемолу за новим призначенням із подальшим встановленням нових фармакодинамічних аспектів впливу препарату на головний мозок.

В основу роботи покладено результати фармакологічних, патофізіологічних, біохімічних, морфологічних, цитологічних, функціональних, експериментальних, інструментальних методів дослідження, власних спостережень церебропротекторної активності модулятора NMDA-рецепторів адемолу при черепно-мозковій травмі у щурів.

В дисертаційній роботі доведено, що 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (адемомол) є перспективним органопротектором із політропними властивостями блокатора N-метил-D-аспартатних (NMDA) рецепторів, захисні механізми якого пов'язані з усуненням енергодефіциту та метаболічного ацидозу, зменшенням набряку ГМ та нейродеструкції, корекцією антиоксидантно-оксидантної системи, зменшенням апоптозу, нормалізуючим впливом на обмін монооксиду азоту, збереженням цитоархітектоніки ГМ, що обґрунтовує його подальшу можливість застосування в клінічних умовах гострого періоду черепно-мозкової травми в якості первинного церебропротекторного агента.

Для досягнення поставленої мети проведена розробка та стандартизація нової моделі черепно-мозкової травми різного ступеня важкості для скринінгу

лікувальних властивостей різних фармакологічних засобів у щурів, яка була викликана пострілом з пневматичного пістолету до трепанаційного отвору з відстані 0 см; 0,5 см та 1 см, що за динамікою показника летальності, рівнем маркера ушкодження головного мозку нейронспецифічної енолази та наявного неврологічного дефіциту за шкалою stroke-index С.Р. McGrow достовірно відповідає класифікації ступеня важкості ЧМТ від важкого до легкого в залежності від відстані пострілу, відповідно від 0 см (впритул) до 1 см ($p < 0,05$) (Пат. 144919 Україна, МПК G 09 В 23/28. Спосіб моделювання черепно-мозкової травми у щурів / Семененко С. І., Ходаківський О. А., Семененко А. І., Семененко Н. О. ; заявник і патентовласник Вінниц. нац. мед. ун-т ім. М. І. Пирогова. – № u201908711 ; заявл. 19.07.2019 ; опубл. 10.11.2020, Бюл. № 21. Пат. 145038 Україна, МПК А 61 В 17/00, G 09 В 23/28, G 01 № 33/48. Спосіб моделювання різних за ступенем важкості експериментальних черепно-мозкових травм у щурів за активністю нейрон-специфічної енолази / Семененко С. І., Ходаківський О. А., Семененко А. І., Семененко Н. О., Столярчук О. В. ; заявник і патентовласник Вінниц. нац. мед. ун-т ім. М. І. Пирогова. – № u202004394 ; заявл. 14.07.2020 ; опублік. 10.11.2020, Бюл. № 21.)

Проведено експериментальний скринінг ефективності різних доз введення 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) на моделі тяжкої черепно-мозкової травми у щурів показав, що максимально достовірна терапевтична дія отримана від застосування розчину адемолу у дозі 2 мг/кг 2 р/д (через кожні 12 год) впродовж 8-ми діб, яку можна вважати умовно-ефективною в умовах даного патологічного стану за показником летальності ($p < 0,05$). Міжгрупове порівняння на 8 добу спостереження ефективності лікування за показником летальності тварин із тяжкою ЧМТ свідчить, що адемомол вірогідно переважав аналогічний ефект групи контролю та обох референт-препаратів в максимально їх ефективних церебропротекторних дозах за показником летальності відповідно: амантадину сульфату (5 мг/кг) і магнію сульфату (250 мг/кг) перевершуючи їх ефективність в середньому на 33% та 83% ($p < 0,05$).

При дослідженні неврологічного дефіциту у щурів при черепно-мозковій травмі аналіз застосування адемолу на 8 добу тяжкої ЧМТ показав кращий фармакологічний ефект та достовірну перевагу над ефектом амантадину сульфату на 17% та магнію сульфату на 30% (середній бал за шкалою С.Р. McGraw становив $9,40 \pm 0,29$ проти $11,00 \pm 0,31$ та $12,30 \pm 0,31$ відповідно). Результати летальності та неврологічного дефіциту у щурів з тяжкою ЧМТ на фоні застосування референт-препаратів вказує на відсутність достовірної ефективності застосування магнію сульфату при експериментальній ЧМТ у щурів. Тому, для подальших експериментальних досліджень було залишено лише один препарат порівняння – амантадину сульфат.

Курсова лікувальна терапія щурів із ЧМТ тяжкого ступеня фармакологічним засобом адемолом (2 мг/кг в/в), вірогідно краще амантадину сульфату (5 мг/кг в/в) сприяла підтриманню мозкового кровотоку на рівні максимально наближеному до вихідного, а також вірогідно перешкоджала падінню основних показників центральної гемодинаміки (артеріального тиску та центрального венозного тиску), при цьому ефективність адемолу за показником об'ємної швидкості мозкового кровообігу краща в порівнянні з групою контролю та амантадину сульфату відповідно на: 76,2 та 34,8% ($p < 0,05$).

Аналіз впливу курсового введення адемолу на формування стероїдної нейротоксичності за рівнем кортизолу в умовах модельної ЧМТ показав, що застосована фармакотерапія попереджувала наростання рівня кортизолу, так у щурів, які отримували адемолом рівень кортизолу в крові коливався в межах $185 \pm 1,53$ нг/мл ($p < 0,05$), порівняно з групою контролю. При цьому, вплив амантадину сульфату на рівень кортизолу в крові був вірогідно меншим, ніж у адемолу і на 49,2% ($p < 0,05$) перевищував відповідний показник у щурів з ЧМТ+адемолом. Отримані дані по енергетичному обміну у щурів із тяжкою ЧМТ, які отримували розчин адемолу в дозі (2 мг/кг в/в) більш ефективно, ніж застосування амантадину сульфату (5 мг/кг в/в), стримувало гіперактивацію анаеробного гліколізу, стимулювало процеси тканинного дихання, зменшувало

ознаки лактат-ацидозу, розвиток вторинної альтерації клітин головного мозку недоокисненими продуктами, коригувало краще падіння активності ферментативної антиоксидантної ланки, попереджувало накопичення активних кисневих інтермедіатів та сповільнювало перебіг реакцій вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів в структурах головного мозку щурів ($p < 0,05$).

Фармакотерапія досліджуваними розчинами в різній мірі зменшувала активність запальної реакції в тканинах травматично пошкодженому мозку. Так, у тварин, яким застосовували адемом та амантадин сульфат, вміст TNF- α в тканинах мозку виявився меншим відповідно на 57,3 % та 43,5 % ($p < 0,05$). При цьому, адемом вірогідно краще, ніж амантадину сульфат та група контролю, попереджував розвиток нітрозативного стресу та збільшував запаси амінокислоти L-аргініну в клітинах головного мозку за умов ЧМТ.

У групі контролю (ЧМТ + 0,9% розчин NaCl) стосовно рівнів NSE та білка S100, як маркерів пошкодження нервової тканини свідчить про те, що на 8-му добу ЧМТ у щурів групи контролю відбувається інтенсивне формування та організація ядра альтераційного осередку. При цьому, адемом та амантадину сульфат стримують розвиток інтенсивної нейрогліопроліферації за умов модельної ЧМТ, так у групах тварин, лікованих адемом та амантадином сульфату відповідно. Тяжка ЧМТ у щурів має депримуєчий вплив на продукцію мозкового нейротрофічного фактору. Досліджувані розчини стримують формування дефіциту нейротрофічного фактору, причому адемом значно випереджає амантадин сульфат за цим ефектом, так рівень BDNF в сироватці крові за умов лікування ЧМТ адемом вірогідно більший на 24,1 % ($p < 0,05$), порівняно з такими показниками при лікуванні амантадином сульфатом.

Аналіз спроможності знижувати рівень фрагментованої ДНК в ядрах нейронів часток кори головного мозку щурів на 8-му добу ЧМТ показує, що адемом вірогідно перевершував референс-препарат.

Встановлено, що адемом препарат із високою біодоступністю, яка забезпечує можливість внутрішньовенного введення. Адемом в достатній мірі

проникає крізь гематоенцефалічний бар'єр, що є запорукою його нейропротекторної активності, а структурна подібність до β -адреноблокаторів та його афінність обумовлює лікворогіпотензивну дію похідного адамантану, що спричиняє зниження підвищеного внутрішньочерепного тиску ($p < 0,05$).

Застосування адемоу сприяє достовірному зниженню летальності та інвалідації щурів з тяжкою ЧМТ в порівнянні з іншими первинними церебропротекторами, що становить інтерес для подальшого поглибленого вивчення його фармакологічних властивостей та оцінки безпечності на предмет придатності його застосування в клінічних умовах за новим призначенням.

Експериментальними *in silico* та дериватографічними методами вивчено сумісність діючих та допоміжних інгредієнтів назальної лікарської форми. Встановлено, що компоненти дослідної форми сумісні між собою та можуть бути поєднані в одній рецептурі. Досліджено консистентні властивості назальної форми з адемолом. Встановлено, що реологічні властивості характеризують рідку консистенцію, тому в якості упаковки доцільно використати флакон з піпеткою (назальною насадкою), одноразову крапельницю, пропелентну або безпропелентну упаковку. Опрацьовано екстемпоральну технологію виготовлення назальної форми з адемолом, яка матиме практичне значення для аптечних закладів з ліцензією на екстемпоральне виготовлення нестерильних лікарських засобів.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше змодельовано експериментальну модель черепно-мозкової травми різних ступенів важкості у щурів.

В роботі деталізовано та патогенетично обгрунтовано високу ефективність 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемоу) в складі експериментальної терапії раннього періоду тяжкої ЧМТ. Вперше підтверджено доцільність використання адемоу (блокатора N-метил-D-аспарататних рецепторів), як первинного церебропротектора з поліфункціональними властивостями у гострий період ЧМТ.

В роботі вивчено та обгрунтовано можливість, доцільність та ефективність

коригуючого впливу раннього призначення 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) в гострий період тяжкої ЧМТ. На основі вивчення результатів церебропротекторної підтримки тяжкої модельної ЧМТ доповнені наукові дані про можливість та доцільність використання адемолу, як блокатора N-метил-D-аспартатних рецепторів, що володіє поліфункціональними властивостями впливу на перебіг тяжкої ЧМТ.

Вперше проведений порівняльний аналіз 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) в гострий період тяжкої ЧМТ та вивчені переваги й недоліки даного фармакологічного засобу з існуючими блокаторами N-метил-D-аспартатних рецепторів, які використовуються для фармакологічної корекції у хворих з ЧМТ. Доповнено наукові дані патогенетичних механізмів впливу адемолу, як первинного церебропротектора в гострий період тяжкої модельної ЧМТ.

Експериментальний аналіз патогенетичних механізмів впливу 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) в гострий період тяжкої ЧМТ дозволив уточнити закономірності змін центральної та церебральної гемодинаміки, зміни показників антиоксидантної рівноваги та енергетичного обміну в ГМ на фоні впливу блокатора N-метил-D-аспартатних рецепторів адемолу та визначити найбільш ефективну дозовану стратегію церебропротекторної підтримки, що здатна як найкраще коригувати порушення при травматично пошкодженню головному мозку.

Вперше експериментально доведено, що рання церебропротекторна підтримка 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) при модельній тяжкій ЧМТ, сприяє зменшенню некрозу та апоптозу в ГМ, що в подальшому зменшує летальність та неврологічний дефіцит.

Доповнені наукові дані, що захисні патогенетичні механізми поліфункціональної дії 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) в складі терапії раннього періоду тяжкої ЧМТ базуються на усуненні: енергодефіциту, метаболічного ацидозу, зменшенні набряку та нейродеструкції мозку, корекції антиоксидантно-оксидантної

системи, збереженні цитоархітектоніки ГМ, зменшенні апоптозу.

Наукову новизну підтверджено 2 патентами України на корисну модель.

Виготовлено назальну форму лікарського засобу, що містить адемомол. Експериментальними *in silico* та дериватографічними методами вивчено сумісність діючих та допоміжних інгредієнтів назальної лікарської форми, досліджено консистентні властивості цієї форми. Встановлено реологічні властивості досліджуваного препарату. Опрацьовано екстемпоральну технологію виготовлення назальної форми з адемомол. Проведено доклінічні дослідження інтраназальної лікарської форми, яка містить адемомол для перевірки її ефективності в лікуванні цереброваскулярної патології.

Практична цінність дослідження. Змодельована нова експериментальна модель ЧМТ різних ступенів важкості у щурів дає можливість для скринінгу лікувальних властивостей різних фармакологічних засобів. В експериментальних умовах на різних за ступенем важкості моделях ЧМТ будуть вивчатися основні механізми захисного впливу лікарських засобів на травматично пошкоджений головний мозок.

Проведене наукове дослідження дозволило розробити нові експериментальні підходи до фармакотерапії тяжкої ЧМТ, що в подальшому може дозволити знизити летальність та зменшити неврологічний дефіцит у пацієнтів з тяжкою ЧМТ.

Отримані результати роботи експериментально обґрунтовують доцільність клінічного випробування фармакологічного засобу 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемомолу) в ін'єкційній формі для лікування черепно-мозкової травми. Наявні церебропротекторні властивості адемомолу в умовах травматичного пошкодження ГМ є дуже важливими, так як враховуючи можливість парентерального введення та наявність впливу на первинні патогенетичні ланки травматичного пошкодження мозку, є всі підстави для його можливого призначення хворим у ранній період травми мозку. Отримані в дисертації дані значно розширюють уявлення механізмів церебропротекторної дії нових сполук модуляторів NMDA-рецепторів та

підтверджують можливість проводити цілеспрямовані кроки, для подальшого клінічного вивчення впливу 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу).

Результати дослідження доповнили існуючі теоретичні знання про перебіг ЧМТ на фоні фармакокорекції новими блокаторами NMDA-рецепторів, вони чітко підтверджують та обґрунтовують подальшу можливість застосування досліджуваних фармакологічних схем в клінічній практиці.

За матеріалами дисертації отримано два патенти на корисну модель 144919 Україна, МПК G 09 B 23/28 та 145038 Україна, МПК А 61 В 17/00, G 09 В 23/28, G 01 N 33/48. Результати дослідження впроваджено у навчальний та науковий процес кафедр фармакології, внутрішньої медицини №2 і біологічної та загальної хімії ВНМУ ім. М.І. Пирогова, кафедри фармакології Буковинського державного медичного університету, кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології національного медичного університету імені О.О. Богомольця, кафедри загальної та клінічної фармації Дніпровського державного медичного університету, кафедри фармакології та клінічної фармакології Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, лабораторії фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України.

Промислова технологія виробництва назального гелю з нейропротектором «Адемола» пройшла успішну апробацію ТОВ «МОБІЛЬ МЕДІКАЛ», перевірено відтворення методик технологічного регламенту та апробовано методики контролю якості. Включено до перспективного плану впровадження нових лікарських засобів на 2024-2026 роки.

Ключові слова: черепно-мозкова травма (ЧМТ), церебропротектори, нейропротектори, неврологічний дефіцит, інтраназальна лікарська форма.

ANNOTATION

Semenenko S.I. Pharmacological substantiation of the use of the NMDA receptor modulator as a cerebroprotector in the case of traumatic brain injury (experimental

study) - qualifying scientific work with manuscript rights.

Dissertation for obtaining the degree of Doctor of Sciences in the field of knowledge 222-"Medicine", specialty 03.14.05 - "Pharmacology". Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, 2023.

The purpose of the work: experimental substantiation of the increase in the effectiveness of the primary cerebroprotection in the case of traumatic brain injury, by using the modulator of the polyamine site of NMDA-receptors ademol for a new purpose, with the subsequent establishment of new pharmacodynamic aspects of the drug's effect on the brain.

The work is based on the results of pharmacological, pathophysiological, biochemical, morphological, cytological, functional, experimental, instrumental methods of research, own observations of the cerebroprotective activity of the NMDA receptor modulator ademol in traumatic brain injury in rats.

The dissertation proved that 1-adamantylthoxy-3-morpholino-2-propanol hydrochloride (ademol) is a promising organoprotector with polytropic properties of the blocker of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors, the protective mechanisms of which are associated with the elimination of energy deficiency and metabolic acidosis, reduction of brain edema and neurodestruction, correction of the antioxidant-oxidant system, reduction of apoptosis, normalizing effect on nitrogen monoxide exchange, preservation of brain cytoarchitectonics, which substantiates its further possibility of use in clinical conditions of the acute period of traumatic brain injury as a primary cerebroprotective agent.

To achieve the goal, a new model of traumatic brain injury of varying degrees of severity was developed and standardized for screening the therapeutic properties of various pharmacological agents in rats, which was caused by a shot from an air gun to the trepanation hole from a distance of 0 cm; 0.5 cm and 1 cm, which according to the dynamics of the mortality rate, the level of the brain damage marker neuron-specific enolase and the existing neurological deficiency according to the scale of stroke-index C.P. McGrow reliably corresponds to the classification of the degree of severity of TBI from severe to mild depending on the distance of the shot,

respectively from 0 cm (up close) to 1 cm ($p < 0.05$) (Pat. 144919 Ukraine, IPC G 09 B 23/28. Method of simulating of traumatic brain injury in rats / Semenenko S. I., Khodakivskyi O. A., Semenenko A. I., Semenenko N. O.; applicant and patent owner, Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University - No. u201908711; application 07/19/2019; published 11/10/2020, Bull. No. 21. Pat. 145038 Ukraine, IPC A 61 B 17/00, G 09 B 23/28, G 01 No. 33/48. The method of modeling of the experimental traumatic brain injury of different degrees of severity in rats by neuron-specific enolase activity / Semenenko S.I., Khodakivskyi O.A., Semenenko A.I., Semenenko N.O., Stolyarchuk O.V.; applicant and patent holder Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University – No. u202004394; statement 14.07.2020; published 10.11.2020, Bul. No. 21.)

An experimental screening of the effectiveness of various doses of administration of 1-adamantyloxy-3-morpholino-2-propanol hydrochloride (Ademol) was carried out on a model of severe brain injury in rats. It showed that the most reliable therapeutic effect was obtained from the use of Ademol solution at a dose of 2 mg/kg 2 r/d (every 12 hours) for 8 days, which can be considered relatively effective in the conditions of this pathological state according to the mortality rate ($p < 0.05$). An intergroup comparison on the 8th day of observation of the effectiveness of treatment according to the lethality index of animals with severe TBI shows that ademol probably outweighed the similar effect of the control group and both reference drugs in their maximum effective cerebroprotective doses according to the lethality index, respectively: amantadine sulfate (5 mg/kg) and magnesium sulfate (250 mg/kg), surpassing their effectiveness by an average of 33% and 83% ($p < 0.05$).

In the study of neurological deficiency in rats with traumatic brain injury, the analysis of the use of ademol on the 8th day of severe TBI showed a better pharmacological effect and a reliable advantage over the effect of amantadine sulfate by 17% and magnesium sulfate by 30% (the average score on the S.R. McGrow scale was 9.40 ± 0.29 versus 11.00 ± 0.31 and 12.30 ± 0.31 , respectively). The results of lethality and neurological deficiency in rats with severe TBI on the background of the use of reference drugs indicate the lack of reliable effectiveness of the use of

magnesium sulfate in experimental TBI in rats. Therefore, only one comparison drug - amantadine sulfate - was left for further experimental studies.

Course medical therapy of rats with severe TBI with the pharmacological agent ademol (2 mg/kg IV), probably better than amantadine sulfate (5 mg/kg IV) contributed to the maintenance of the cerebral blood flow at a level as close as possible to the baseline, and also probably prevented fall of the main indicators of central hemodynamics (arterial pressure and central venous pressure), while the effectiveness of ademol on the indicator of volume velocity of cerebral blood circulation is better compared to the control group and amantadine sulfate, respectively, by: 76.2 and 34.8% ($p < 0, 05$).

The analysis of the effect of the course administration of ademol on the formation of steroid neurotoxicity according to the level of cortisol in the conditions of model TBI showed that the applied pharmacotherapy prevented the increase in the level of cortisol, so in rats receiving ademol the level of cortisol in the blood fluctuated within the range of 185 ± 1.53 ng/ml ($p < 0.05$), compared to the control group. At the same time, the effect of amantadine sulfate on the level of cortisol in the blood was probably less than that of ademol and by 49.2% ($p < 0.05$) exceeded the corresponding indicator in rats with TBI + ademol. The obtained data on energy metabolism in rats with severe TBI, which received ademol solution in a dose (2 mg/kg IV) more effectively than the use of amantadine sulfate (5 mg/kg IV), restrained the hyperactivation of anaerobic glycolysis, stimulated the processes tissue respiration, decreased signs of lactic acidosis, the development of secondary alteration of brain cells by underoxidized products, better corrected the decrease in the activity of the enzymatic antioxidant link, prevented the accumulation of active oxygen intermediates and slowed down the course of reactions of free radical oxidation of lipids and proteins in the brain structures of rats ($p < 0.05$).

Pharmacotherapy with the studied solutions in varying degrees reduced the activity of the inflammatory reaction in the tissues of the traumatically damaged brain. Thus, in animals treated with ademol and amantadine sulfate, the content of TNF- α in brain tissues was lower by 57.3% and 43.5%, respectively ($p < 0.05$). At the

same time, ademol probably better than amantadine sulfate and the control group prevented the development of nitrosative stress and increased the reserves of the amino acid L-arginine in brain cells under conditions of TBI.

In the control group (TBI + 0.9% NaCl solution), in relation to the levels of NSE and protein S 100, as markers of nerve tissue damage, it is shown that on the 8th day of TBI in the rats of the control group occurs intense formation and organization of the nucleus of the alteration center. At the same time, ademol and amantadine sulfate inhibit the development of intensive neuroglial proliferation under model TBI conditions, both in groups of animals treated with ademol and amantadine sulfate, respectively. Severe TBI in rats has a depressing effect on the production of brain-derived neurotrophic factor. The studied solutions inhibit the formation of neurotrophic factor deficiency, and ademol is significantly ahead of amantadine sulfate in terms of this effect, so the level of BDNF in blood serum under the conditions of treatment of TBI with ademol is probably higher by 24.1% ($p < 0.05$), compared to such indicators during amantadine sulfate treatment.

Analysis of the ability to reduce the level of fragmented DNA in the nuclei of neurons of the lobes of the cerebral cortex of rats on the 8th day of TBI shows that ademol was probably superior to the reference drug.

It has been established that ademol is a drug with high bioavailability, which provides the possibility of intravenous administration. Ademol sufficiently penetrates through the blood-brain barrier, which is the key to its neuroprotective activity, and the structural similarity to β -adrenoblockers and its affinity determines the hypotensive action of the adamantane derivative, which causes a decrease in increased intracranial pressure ($p < 0.05$).

The compatibility of the active and auxiliary ingredients of the nasal dosage form was studied by experimental *in silico* and derivatographic methods. It was established that the components of the experimental form are compatible with each other and can be combined in one recipe. The consistent properties of the nasal form with ademol were studied. It has been established that the rheological properties characterize a liquid consistency, therefore it is advisable to use a bottle with a pipette

(nasal nozzle), a disposable dropper, propellant or propellant-free packaging as packaging. An extemporaneous technology for the production of a nasal form with ademol was developed, which will be of practical importance for pharmacies with a license for the extemporaneous production of non-sterile medicinal products.

Scientific novelty of the obtained results. For the first time, an experimental model of traumatic brain injury of various degrees of severity in rats was simulated.

In the work, the high efficiency of 1-adamantylthoxy-3-morpholino-2-propanol hydrochloride (ademol) as part of experimental therapy in the early period of severe TBI is detailed and pathogenetically substantiated. For the first time, the expediency of using ademol (an N-methyl-D-aspartate receptor blocker) as a primary cerebroprotector with multifunctional properties in the acute period of TBI has been confirmed.

The possibility, expediency and effectiveness of the corrective effect of early administration of 1-adamantylthoxy-3-morpholino-2-propanol hydrochloride (ademol) in the acute period of severe TBI are studied and substantiated in the work. Based on the study of the results of cerebroprotective support of a severe TBI model, scientific data on the possibility and feasibility of using ademol as a blocker of N-methyl-D-aspartate receptors, which has multifunctional properties of influence on the course of a severe TBI, were supplemented.

For the first time, a comparative analysis of 1-adamantylthoxy-3-morpholino-2-propanol hydrochloride (ademol) in the acute period of severe TBI was performed and the advantages and disadvantages of this pharmacological agent with existing blockers of N-methyl-D-aspartate receptors, which are used for pharmacological correction in patients with TBI. Added scientific data on the pathogenetic mechanisms of the effect of ademol as a primary cerebroprotector in the acute period of severe model TBI.

Experimental analysis of the pathogenetic mechanisms of the influence of 1-adamantylthoxy-3-morpholino-2-propanol hydrochloride (ademol) in the acute period of severe TBI made it possible to specify the regularities of changes in central and cerebral hemodynamics, changes in the indicators of antioxidant balance and energy

metabolism in the brain against the background of the influence of the N-methyl blocker -D-aspartate receptors of ademol and to determine the most effective dosed strategy of cerebroprotective support, which is able to best correct disorders in traumatically damaged brain.

It was experimentally proven for the first time that early cerebroprotective support with 1-adamantylthoxy-3-morpholino-2-propanol hydrochloride (ademol) in a model of severe TBI contributes to the reduction of necrosis and apoptosis in the brain, which subsequently reduces mortality and neurological deficits.

Added scientific data that the protective pathogenetic mechanisms of the multifunctional action of 1-adamantylthoxy-3-morpholino-2-propanol hydrochloride (ademol) as part of the therapy of the early period of severe TBI are based on the elimination of: energy deficiency, metabolic acidosis, reduction of swelling and neurodestruction of the brain, correction of antioxidant-oxidant system, preservation of cytoarchitectonics of brain, reduction of apoptosis.

The scientific novelty was confirmed by 2 patents of Ukraine for a useful model.

A nasal form of the drug containing ademol was produced. The compatibility of the active and auxiliary ingredients of the nasal dosage form was studied by experimental *in silico* and derivatographic methods, and the consistent properties of this form were investigated. The rheological properties of the drug under study were established. The extemporaneous technology of manufacturing a nasal mold with ademol was developed. Preclinical studies of the intranasal dosage form, which contains ademol, were conducted to check its effectiveness in the treatment of cerebrovascular pathology.

Practical value of research. The simulated new experimental model of TBI of various degrees of severity in rats provides an opportunity for screening the therapeutic properties of various pharmacological agents. Under experimental conditions, the main mechanisms of the protective effect of drugs on the traumatically damaged brain will be studied on TBI models of different degrees of severity.

The conducted scientific research made it possible to develop new experimental

approaches to the pharmacotherapy of severe TBI, which may further reduce mortality and reduce neurological deficiency in patients with severe TBI.

The obtained results of the work experimentally justify the expediency of a clinical trial of the pharmacological agent 1-adamantylthoxy-3-morpholino-2-propanol hydrochloride (ademol) in injection form for the treatment of craniocerebral trauma. The existing cerebroprotective properties of ademol in conditions of traumatic damage of the brain are very important, since taking into account the possibility of parenteral administration and the presence of influence on the primary pathogenetic links of traumatic brain damage, there is every reason for its possible appointment to patients in the early period of brain injury. The data obtained in the dissertation significantly expand the understanding of the mechanisms of cerebroprotective action of new compounds of NMDA-receptor modulators and confirm the possibility of taking targeted steps for further clinical study of the effect of 1-adamantylthoxy-3-morpholino-2-propanol hydrochloride (ademol).

The results of the study supplemented the existing theoretical knowledge about the course of TBI against the background of pharmacocorrection with new NMDA-receptor blockers, they clearly confirm and justify the further possibility of using the investigated pharmacological schemes in clinical practice.

According to the dissertation materials, two utility model patents were obtained: 144919 Ukraine, IPC G 09 B 23/28 and 145038 Ukraine, IPC A 61 B 17/00, G 09 B 23/28, G 01 N 33/48. The results of the study were implemented in the educational and scientific process of the departments of pharmacology, internal medicine No. 2, and biological and general chemistry of Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University, Department of Pharmacology of the Bukovinian State Medical University, Department of Clinical Pharmacy and Clinical Pharmacology of the Bogomolets National Medical University, the Department of General and Clinical Pharmacy of the Dnipro State Medical University, the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology of the I. Gorbachevsky Ternopil National Medical University, laboratories of physical and chemical pharmacology of the O.V. Bogatsky Physical and Chemical Institute of National Academy of Sciences of Ukraine.

Industrial technology for the production of nasal gel with neuroprotector "Ademol" has successfully passed the approval of "MOBIL MEDICAL" LLC, the reproduction of the methods of the technological regulation has been checked and the quality control methods have been tested. Included in the perspective plan for the introduction of new medicines for 2024-2026.

Key words: traumatic brain injury (TBI), cerebroprotectors, neuroprotectors, neurological deficiency, intranasal dosage form.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Семененко СІ, Ходаківський ОА, Семененко ОМ, Яковлева ОО, Семененко НО. Оцінка нейропротективних властивостей адемолу в умовах експериментальної черепно-мозкової травми. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2019; 23(2): 209–211. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2019-23(2)-04

2. Семененко СІ. Можливості фармакологічної корекції порушення вуглеводного обміну в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2019; 23(3): 372–376. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2019-23(3)-05

3. Семененко СІ, Семененко АІ, Семененко ІФ. Вплив амантадину сульфату на стан церебральної та центральної гемодинаміки при експериментальній черепно-мозковій травмі. Медицина невідкладних станів. 2019; 6(101): 106–110. DOI: 10.22141/2224-0586.6.101.2019.179607

4. Семененко СІ, Семененко АІ, Семененко ОМ. Дослідження впливу амантадину сульфату на динаміку нейроапоптозу при експериментальній черепно-мозковій травмі. Медицина невідкладних станів. 2019; 7(102): 6–10. doi: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0586.7.102.2019.180352>

5. Семененко СІ. Дослідження церебропротекторної ефективності адемолу та магнію сульфату на експериментальній моделі черепно-мозкової

травми. Клінічна та експериментальна патологія. 2019;18(3): 63–69.
DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XVIII.3.69.2019.11>

6. Семененко СІ, Ходаківський ОА, Хребтій ГІ, Семененко АІ, Саєнко АВ. Вплив введення амантадину сульфату на перебіг процесів оксидативного стресу в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою / Клінічна та експериментальна патологія. 2019; 18(4): 67–73.

7. Семененко СІ. Порівняльний вплив адемолу, амантадину сульфату, магнію сульфату на неврологічний дефіцит та мнестичні функції у щурів із моделлю черепно-мозкової травми. Буковинський медичний вісник. 2019; 23(4): 108–115. DOI: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXIII.4.92.2019.97>

8. Semenenko SI, Khrebtii HI, Semenenko AI. Investigation of the impact of amantadine sulphate on certain pathogenetic mechanisms of traumatic brain injury. Deutscher Wissenschaftsherold German Science Herald. 2019;4: 23–26. DOI:10.19221/201945

9. Семененко СІ, Семененко АІ, Поліщук СС, Вознюк ЛА, Семененко ОМ. Дослідження впливу адемолу на обмін монооксиду азоту в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою. Медицина невідкладних станів. 2020; 16(1):85–88. doi: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0586.16.1.2020.196934>

10. Семененко СІ, Семененко АІ, Поліщук СС, Вознюк ЛА, Семененко ІФ. Вплив адемолу на рівень фактора некрозу пухлини α у головному мозку щурів з модельним травматичним ураженням мозку. Медицина невідкладних станів. 2020; 16(4): 121–124. DOI: 10.22141/2224-0586.16.4.2020.207941

11. Семененко СІ. Вплив адемолу на формування стероїдної нейротоксичності зарівнем кортизолу в умовах модельної черепно-мозкової травми. Клінічна та експериментальна патологія. 2020; 19(1): 85–90. DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XIX.1.71.2020.13>

12. Семененко СІ, Ходаківський ОА, Семененко АІ, Семененко ОМ. Оцінювання впливу різних церебропротекторів на динаміку церебральної та центральної гемодинаміки при черепно-мозковій травмі в щурів. Запоріж. мед. журн. 2020; 22(5): 622–626. DOI: <https://doi.org/10.14739/2310->

1210.2020.5.214725

13. Semenenko S, Semenenko A, Malik S, Semenenko N, Malik L. Evaluation of the effect of ademol on the dynamics of neuron-specific enolase in traumatic brain injury in rats. *Georgian Medical News*. 2020; 5: 123–126.

14. Семененко СІ, Хребтій НІ, Семененко АІ. Церебропротекторні властивості адемолу при черепно-мозкових травмах. *Буковинський медичний вісник*. 2020; 24(2): 159–166.

15. Semenenko S, Semenenko A, Khrebtii H, Bodnar R, Semenenko N. The effect of ademol on the dna fragmentation of cerebral cortex cells in rats with experimental traumatic brain injury. *Georgian Medical News*. 2021;9(318): 143–146.

16. Semenenko S, Semenenko A, Semenenko N, Dobrovanov O, Dmytriiev D, Vidiščák M. The influence of the course infusion of ademol on the pool of adenyl nucleotides and intermediates of carbohydrate exchange in the brain of rats with traumatic brain injury. *Lekárskyobzor*. 2021; 70(6): 212–215.

17. Семененко С. Особливості морфологічних змін у структурах головного мозку щурів в умовах модельної черепно-мозкової травми. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2021; 20(2):73–79. DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XX.2.76.2021.11>

18. Семененко СІ, Семененко АІ, Редькін РГ, Семененко ІФ. Оцінка молекулярної мішені адемолу методом хемоінформатики. *Медицина невідкладних станів*. 2021; 17(7): 37–41.

19. Semenenko S, Semenenko A, Redkin R, Dobrovanov O, Dmitriev D, Semenenko O, Vidiščák M. Evaluation of ademol molecular target by bioinformatics method according to criteria of liquidity of biodaccessibility and molecular docking. *Lekársky obzor*. 2022; 71 (1): 21-26.

20. Семененко СІ, Бурлака БС, Бурлака КА, Семененко ОМ. Розробка рідкої лікарської форми для інтраназального введення на основі адемолу. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022; 16(3): 205–213. <https://doi.org/10.33250/16.03.205>

21. Semenenko S, Semenenko A, Saienko A, Semenenko N, Konovalova N,

Babina Y, Nazarchuk H. Study of the Effect of Ademol on the Dynamics of S100 Protein in Rats with Traumatic Brain Injury. *Journal of Pharmaceutical Research International JPRI*. 2022; 34(25A): 33–37. DOI: [10.9734/jpri/2022/v34i25A35945](https://doi.org/10.9734/jpri/2022/v34i25A35945)

22. Semenenko S, Semenenko A, Dobrovanov O, Saienko A, Semenenko N, Dmitriev D, Konovalova N. The effect of ademol on the dynamics of s100 proteins in rats with traumatic brain injury. *Lekársky obzor*. 2023. № 72 (4). С. 164-166

23. Semenenko SI, Miedviedieva KP, Vasiuk SO, Burlaka BS. Development of a spectrophotometric technique for the quantitative determination of ademol. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2023; 16(1): 28-32. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.1.267437>

24. Semenenko S, Semenenko I, Burlaka B, Samura I, Bukhtiyarova N, Ryzhenko V, Khromylova O. Evaluation of the Cerebroprotective Properties of Ademol-gel in the Analysis of Specific Indicators in the Open Field Test. *Biomed Pharmacol J*. 2023; 16(2): 1219-1227. <https://dx.doi.org/10.13005/bpj/2702>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

25. Семененко С.І., Семененко А.І. «Підводні камені» при інтенсивній терапії хворих з черепно-мозковою травмою. Конгрес анестезіологів України (19–21 вересня 2019 р., м. Київ). – Київ: НМУ імені О.О. Богомольця, 2019. (Форма участі: усна доповідь).

26. Семененко С. І. Церебропротекторні дози адемола в умовах ЧМТ у щурів / С. І. Семененко, А. І. Семененко // Матеріали конгресу анестезіологів України (19–21 вересня 2019 р., м. Київ). – Київ: НМУ імені О.О. Богомольця, 2019. – С. 85. (Форма участі: публікація тез).

27. Семененко С. І. Динаміка змін показників білку S 100 у щурів із черепно-мозковою травмою під впливом адемола / С. І. Семененко, О. А. Ходаківський, О. О. Яковлева // «Невідкладна допомога, інтенсивна терапія та анестезіологічне забезпечення важкохворих» : матеріали Подільської всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (3–4 жовт. 2019 р., м. Вінниця) // Журнал подільських конференцій. – 2019. – Т. 3(III). – С. 68–69. (Форма участі: публікація тез).

28. Семененко С. І. Оцінка нейропротективних властивостей адемолу при експериментальній черепно-мозковій травмі / С. І. Семененко, А. І. Семененко // «Тріщинські читання» : матеріали наук.-практ.конф. з міжнар. участю. Молодіжна анестезіологічна конференція (16–18 жовтня 2019 р., м. Київ). – Київ: НМАПО імені П. Л. Шупика, 2019. – С. 56–57. (*Форма участі: публікація тез*).

29. Semenenko S. Effective nessof correction of discussion of carbohydrate metabolism in rats with craniocerebral injury / S. Semenenko, A. Semenenko // «Technology transfer: innovative solutions in medicine»: Proceedings of the 3rd Annual Conference (30 october 2019, Tallin, Estonia). – Tallin: DKlex ACADEMY, 2019. – P. 30–32. (*Форма участі: публікація тез*).

30. Динаміка змін концентрації білку S100 у щурів із черепно-мозковою травмою / С. І. Семененко, О. О. Яковлева, О. А. Ходаківський, О. В. Марчук // «Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової медицини» : матеріали X Всеукраїнської наук.-практ. конф. за участю міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології (7-8 листопада 2019 р., м. Вінниця). – Вінниця:ВНМУ ім. М.І. Пирогова, 2019. – С. 192–194. (*Форма участі: усна доповідь, публікація тез*).

31. Семененко С. І. Спосіб відновлення порушень вуглеводного обміну у щурів із черепно-мозковою травмою / С. І. Семененко, А. І. Семененко // Збірник тез IV Міжнародного медичного наук.-практ. форуму «Медицина України – європейський вибір» (27-28 лютого 2020 р., м. Івано-Франківськ). – Івано-Франківськ: Івано-Франківський НМУ, 2020. – С. 27–29. (*Форма участі: публікація тез*).

32. The effects of 1-adamantylethyloxy-3-morpholino-2-propanol-hydrochloride on the formation of steroid neurotoxicity in rats with brain injury / A. Semenenko, S. Semenenko, A. Solomonchuk, N. Semenenko // 40th International Symposium on Intensive Care & Emergency Medicine (24-27 March 2020, Brussels, Belgium). – CriticalCare. – 2020. – Vol. 24(1). –027. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-2772-3> (*Форма участі: публікація тез*).

33. Семененко С. І. Ефективність адемолу щодо корекції фактору некрозу пухлин у головному мозку щурів на моделі черепно-мозкової травми / С. І. Семененко, А. І. Семененко, О. О. Яковлева // «Ключові питання невідкладної допомоги, інтенсивної терапії та анестезіології»: матеріали Подільської всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (9–10 жовт. 2020 р., м. Вінниця) // Журнал подільських конференцій. –2020. – Т. 4 (IV). –С. 59–60. *(Форма участі: публікація тез)*.

34. Семененко С. І. Ефективність адемолу при експериментальній черепно-мозковій травмі щодо впливу на оксидативний стрес / С. І. Семененко, А. І. Семененко, О. О. Яковлева // Матеріали IV Міжнародного конгресу з інфузійної терапії (12-13 жовтня, 2020 р., м. Київ). // Infusion&Chemotherapy. – 2020. – Vol. 3(1). – Р. 71-72. DOI: 10.32902/2663-0338-2020-3/1-59 *(Форма участі: публікація тез)*.

35. Семененко С.І., Семененко О.М. Перспективи створення назальної лікарської форми на основі адемолу. Клінічна фармакологія сьогодення: шляхи максимальної допомоги лікарській спеціальності: науково-практична конференція (9-10 листопада 2023 року., м. Вінниця). *(Форма участі: усна доповідь)*.

ЗМІСТ

| | Стор. |
|---|-------|
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, ТЕРМІНІВ..... | 27 |
| ВСТУП..... | 28 |
| РОЗДІЛ 1 КОРЕКЦІЯ ГЛУТАМАТНОЇ ЕКСАЙТОТОКСИЧНОСТІ, ЯК ПАТОГЕНЕТИЧНИЙ ВЕКТОР ЦЕРЕБРОПРОТЕКТИВНОЇ ТЕРАПІЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)... | 39 |
| 1.1 Патогенетичні ланки пошкодження нейронів головного мозку при черепно–мозковій травмі | 39 |
| 1.2 Патогенетична роль активації NMDA–рецепторів у розвитку глутаматної ексайтотоксичності при черепно-мозковій травмі..... | 54 |
| 1.3 Основні напрямки лікування черепно-мозкової травми в контексті доказової медицини..... | 63 |
| 1.4 Ефективність модуляторів глутаматної ексайтотоксичності при гострій цереброваскулярній патології травматичного генезу: досягнення, недоліки, перспективи подальших розробок та клінічного впровадження..... | 71 |
| 1.5 Доцільність доклінічної оцінки модулятора активності NMDA-рецепторів Адемолу за новим призначенням в якості церебропротекторного засобу при черепно-мозковій травмі..... | 88 |
| РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ..... | 94 |
| 2.1 Експериментальні тварини. Комплексне графічне зображення дизайну..... | 94 |
| 2.1.1. Характеристики тест-системи..... | 94 |
| 2.1.2. Обґрунтування вибору тест-системи..... | 94 |
| 2.1.3. Умови утримання тварин..... | 94 |
| 2.1.4. Акліматизація і рандомізація..... | 95 |

| | | |
|--|--|-----|
| 2.2 | Опис та критерії оцінки власно створеної моделі черепно-мозкової травми у щурів, викликаної дією потоку вуглекислого газу під тиском..... | 98 |
| 2.3 | Досліджуваний препарат (промисловий зразок ампульного розчину Адемолу) та референси (амантадину та магнію сульфат). Обґрунтування вибору препарату порівняння..... | 100 |
| 2.4 | Характеристика доклінічних протоколів введення Адемолу та референсів..... | 102 |
| 2.5 | Характеристика методик дослідження..... | 103 |
| 2.6 | Статистична обробка результатів..... | 117 |
| РОЗДІЛ 3 РОЗРОБКА ТА АПРОБАЦІЯ ВЛАСНОСТВОРЕНОЇ МОДЕЛІ ЗАКРИТОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ У ЩУРІВ, ВИКЛИКАНОЇ ДІЄЮ ПОТОКУ ВУГЛЕКИСЛОГО ГАЗУ ПІД ТИСКОМ ДЛЯ ДОКЛІНІЧНОЇ ОЦІНКИ ПОТЕНЦІЙНИХ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРІВ..... | | |
| 3.1 | Характеристика моделі черепно-мозкової травми за динамікою показника летальності щурів..... | 118 |
| 3.2 | Характеристика моделі за активністю сироваткового нейромаркера нейрон-специфічної енолази у щурів. Класифікація ступенів тяжкості..... | 120 |
| 3.3 | Характеристика моделі за картиною неврологічного дефіциту у щурів | 123 |
| РОЗДІЛ 4 ОЦІНКА НЕЙРОПРОТЕКТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АДЕМОЛУ В УМОВАХ МОДЕЛЬНОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ..... | | |
| 4.1 | Пошук умовно-ефективної церебропротективної дози Адемолу за динамікою показника летальності щурів в умовах модельної черепно-мозкової травми..... | 125 |
| 4.2 | Дослідження неврологічного дефіциту у щурів із моделлю черепно-мозкової травми та оцінка мнемотропної активності | |

| | |
|---|-----|
| Адемолу..... | 134 |
| 4.3 Вплив Адемолу на динаміку церебральної та центральної гемодинаміки при черепно-мозковій травмі у щурів..... | 138 |
| РОЗДІЛ 5 ВИВЧЕННЯ ПАТОГЕНЕТИЧНИХ ТА БІОХІМІЧНИХ МЕХАНІЗМІВ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ АДЕМОЛУ НА ТЛІ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ..... | 146 |
| 5.1 Вплив курсового введення Адемолу на формування стероїдної нейротоксичності за рівнем кортизолу в умовах модельної черепно-мозкової травми..... | 146 |
| 5.2 Вплив курсового введення Адемолу на пул аденілових нуклеотидів та інтермедіатів вуглеводного обміну в головному мозку щурів із експериментальною черепно-мозковою травмою..... | 148 |
| 5.3 Порівняльна оцінка впливу курсового введення Адемолу та амантадину сульфату (референс) на перебіг оксидативного стресу в головному мозку щурів із експериментальною черепно-мозковою травмою..... | 153 |
| 5.4 Дослідження впливу курсової інфузії Адемолу на обмін монооксиду азоту в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою..... | 159 |
| 5.5. Вплив Адемолу на рівень фактору некрозу пухлин у головному мозку щурів із модельним травматичним ураженням мозку..... | 161 |
| РОЗДІЛ 6 ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КУРСОВОЇ ТЕРАПІЇ АДЕМОЛОМНА ПРОЦЕСИ НЕЙРОДЕСТРУКЦІЇ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ..... | 165 |
| 6.1 Вплив Адемолу на активність нейронспецифічної енолази та вміст білку S100 у щурів із модельною черепно-мозковою травмою..... | 165 |
| 6.2 Вплив Адемолу на процеси нейроапоптозу у щурів у посттравматичний період..... | 170 |

| | |
|--|-----|
| 6.3 Оцінка морфологічних змін в структурах головного мозку щурів на тлі курсової терапії модельної черепно-мозкової травми Адемолом..... | 175 |
| РОЗДІЛ 7 ОЦІНКА МОЛЕКУЛЯРНОЇ МІШЕНІ АДЕМОЛУ МЕТОДАМИ ХЕМОІНФОРМАТИКИ ЗА КРИТЕРІЯМИ ЛІКОПОДІБНОСТІ БІОДОСТУПНОСТІ ТА МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКІНГУ..... | 208 |
| РОЗДІЛ 8 ДОСЛІДЖЕННЯ ЩОДО СТВОРЕННЯ ІНТРАНАЗАЛЬНОЇ ФОРМИ АДЕМОЛУ..... | 225 |
| 8.1 Вивчення сумісності активного фармацевтичного інгредієнту з допоміжними речовинами у модельній назальній лікарській формі..... | 226 |
| 8.2 Дослідження консистентних властивостей модельної рідкої назальної форми з адемолом..... | 232 |
| 8.3 Розробка технології екстемпорального виготовлення назальної форми з адемолом..... | 234 |
| 8.4 Доклінічне дослідження інтраназальної форми адемолу..... | 235 |
| АНАЛІЗ УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ПРОВЕДЕНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ..... | 247 |
| ВИСОВКИ..... | 279 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ..... | 283 |
| ДОДАТОК А..... | 338 |
| ДОДАТОК Б..... | 345 |
| ДОДАТОК В..... | 352 |
| ДОДАТОК Г..... | 354 |
| ДОДАТОК Д..... | 358 |

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, ТЕРМІНІВ

- АФІ - активний фармацевтичний інгредієнт
АФК – активні форми кисню
ВЧТ – внутрішньо-черепний тиск
ГПМК – гостре порушення мозкового кровообігу
ГПО – глутатіонпероксидаза
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
ІР – ішемія-реперфузія
КГП – карбонільні групи протеїнів
МДА – малоновий діальдегід
ОМБ – окисна модифікація білка
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
СА – сонна артерія
СК – субарахноїдальний крововилив
СОД – супероксиддисмутаза
УРПУ – умовна реакція пасивного уникання
ЦНС – центральна нервова система
ЧМТ – черепно-мозкова травма
BDNF - мозковий нейротрофічний фактор
11 β -HSD1 – 11- β -гідроксистероїддегідрогеназа першого типу
L-Arg – L-аргінін
NMDA– N-метил-D-аспартат
NO – монооксид азоту
NOS – NO-синтаза
NSE – нейронспецифічна енолаза
TNF- α - фактору некрозу пухлин

ВСТУП

Незважаючи на щорічне зростання кількості друкованих наукових робіт вітчизняних та закордонних вчених у галузі нейропатології та фармакології, які присвячено всебічному висвітленню біохімічних, молекулярних, та морфологічних змін у структурах головного мозку при його пошкодженні, об'єднуючої інтегративної концепції, за допомогою якої було б можливо пояснити всі процеси, що мають місце при реалізації загибелі нейрону як структурно-функціональної одиниці центральної нервової системи (ЦНС) ще досі не створено [1, 2]. Зокрема, залишаються дискусійними питання щодо ефективності, раціональності та безпечності застосування блокаторів N-метил-D-аспартатних (NMDA) рецепторів у гострій період черепно-мозкової травми (ЧМТ) в якості первинних нейропротективних агентів, а також їх фізіологічність та співставимість з патогенезом даної нозології [3].

Результати майже двох сотень останніх оприлюднених Міжнародних рандомізованих клінічних досліджень, щодо ефективності церебропротекторів із різноманітним впливом на ключові патобіохімічні ланки ішемічного каскаду в мозку на фоні пошкодження головного мозку (ГМ), починаючи від активації NMDA-рецепторів, закінчуючи реалізацією апоптотичних і некробіотичних програмнейрональної смерті, виявились невтішними, оскільки ефективність жодного з них не відповідала високим критеріям доказової медицини [3].

Згідно з цими фактами, Європейські та Міжнародні асоціації у своїх настановах щодо ведення хворих із ішемічним та геморагічним інсультом, транзиторними ішемічними атаками не рекомендують включати нейропротектори у програму інтенсивної терапії цих станів [4]. Це твердження є справедливим і для ЧМТ, оскільки ішемічно-гіпоксичний фактор є спільним для всіх деструктивно-дегенеративних уражень ЦНС [5].

Сподівання лікарів на дієвість таких церебропротекторів як цитиколін та церебролізин, ефективність яких упродовж останнього десятиріччя широко декларувалась з позицій доказової медицини у багатьох країнах світу, зрештою,

не знайшла свого віддзеркалення у клінічній практиці [4, 6, 7, 8].

Попри невідале впровадження цілої низки перспективних нейропротекторів у терапію інсультів та ЧМТ, зусиллями патофізіологів, фармакологів, морфологів, біохіміків та вчених інших фундаментальних медичних дисциплін, були відкриті нові особливості патогенезу альтерації нейроцитів в умовах церебральної ішемії, у т.ч. і травматичного генезу. Зокрема, суттєво поглиблено знання стосовно періодизації патобіохімічного каскаду, встановлено багаторівневу будову та специфіку NMDA-рецепторів і, на сам кінець, намічено патогенетичні ланки можливого фармакологічного впливу на формування глутаматної ексайтотоксичності [9, 10, 11, 12].

На нашу думку, чітке окреслення патогенетично спрямованого вектора, у напрямку якого можливе концептуальне бачення вирішення можливих шляхів оптимізації лікування та наслідків ЧМТ, шляхом фармакологічної модуляції потенційних мішеней (зокрема таких, як NMDA-рецептори), дозволило Європейському та Міжнародному комітету невропатологів та нейрофармакологів не тільки зберегти у своїх програмах доцільність, перспективність та необхідність подальшого цілеспрямованого пошуку нових біологічно активних речовин із нейроцитопротекторною дією, а й заохотити вчених до ґрунтовної оцінки та можливого перегляду своїх точок зору стосовно наявних захисних властивостей на головний мозок у вже відомих лікарських засобів з впливом на ЦНС, що є значно дешевшим з економічної точки зору [4, 5].

Деяким адамантанвмісним лікарським засобам, зокрема амантадину сульфату або гідрохлориду, мемантину та адемолу, притаманна антагоністична дія на NMDA-рецептори, що проявляється у збереженні морфофункціонального стану нейронів на різних за генезом розвитку моделях ураження мозку [13].

Нашу увагу привернуло одне із таких похідних адамантану, а саме 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид – Адемол, виробництва ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»» (Київ, Україна), рис. 1.

Молекула 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду структурно подібна до амантадину та кардіонеселективного β -адреноблокатора пропранололу. Наявність нейро-, кардіо- термо- актопротекторної, антигіпоксичної, протиішемічної, анксиолітичної, ноотропної, аналгетичної та адаптогенної дії, а також притаманні йому антихолінестеразні, гангліо- та β -адреноблокувальні ефекти [14, 15-27, 28-31], дають підстави сподіватись на можливе виявлення у Адемолу захисної дії на мозок і в умовах ЧМТ.

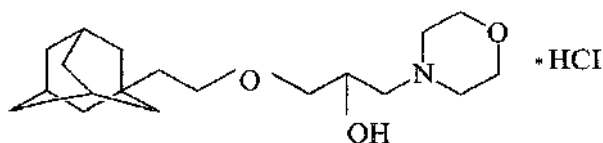


Рис. 1. Хімічна структура 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (Адемол).

Підґрунтям для поглибленого дослідження церебропротекторних властивостей промислового зразка 1,0 % розчину Адемолу («Дарниця», Україна), стали результати, отримані нами у попередніх роботах, які були присвячені оцінці його захисних властивостей на головний мозок при модельній гострій церебральній ішемії. Так, вперше, з використанням єдиного комплексного підходу у досліджах *in vivo* та *in vitro*, встановлено широкий спектр нейропротективної дії ампульного розчину адемолу на різних рівнях (від молекулярних і морфологічних змін в нейронах до формування поведінкових і неврологічних функцій). Доведено, що захисна дія адемолу не тільки зіставляється, а й подекуди переважає ефективність цитиколіну, пірацетаму, мексидолу, актовегіну, тіотриазоліну та корвітину, на що вказує його спроможність в умовно ефективній дозі 2 мг/кг внутрішньоочеревинно (в/о) при гострому порушенні мозкового кровотоку (ГПМК) зменшувати летальність, відстрочувати загибель тварин, покращувати їх неврологічний статус та мнестичні функції [13, 14, 15-27, 28-31].

Результати досліджень останніх років показали, що первинною та провідною ланкою, функціонування якої забезпечує реалізацію усього комплексу нейроцитопротекторних механізмів адемола, є його спроможність, як модулятора поліамінового сайту NMDA-рецепторів перешкоджати глутаматній ексайтотоксичності без розвитку побічних реакцій, що притаманні повним блокаторам N-метил-D-аспартатного сайту [15-27, 28-31, 32]. При оцінці фармакологічних характеристик аспартат-активованих струмів на ізольованих пірамідних нейронах гіпокампу 15-денних білих щурів лінії Вістар WAG/GS було встановлено, що адемола є антагоністом/агоністом поліамінового сайту NMDA-рецепторів [26, 27]: він гальмує розвиток нейродеструктивних процесів, опосередкованих глутаматною ексайтотоксичністю. Біологічно-активні речовини із подібним механізмом дії мають нейротрофічну складову та здатні підвищувати експресію молекул пам'яті CREB. Препарати із модулювальною дією на поліаміновий сайт NMDA-рецепторів не призводять до появи небажаних побічних реакцій з боку ЦНС, які притаманні повним блокаторам фенциклідинового сайту і проявляються у вигляді когнітивно-мнестичних розладів [13].

Особливістю адемола, на відміну від інших відомих похідних адамантану, є блокувальна дія на β -адренорецептори, яка реалізується за рахунок структурної подібності його амінного фрагменту до пропранололу і існує у вигляді кардіопротекторних ефектів при експериментальному інфаркті міокарда та стимулювальною дією на міометрій матки [29]. Завдяки неселективній блокаді β -адренорецепторів у венулах ока, Адемола знижує підвищений внутрішньочерепний тиск [33]. Невивченим залишається питання можливості впливу адемола через β -адренорецептори на тонус венул мозку (синуси та мальпігієві судини), що може призводити до зниження підвищеного внутрішньочерепного тиску при ЧМТ і це потребує експериментального дослідження.

Аналізуючи наведені факти, ми дійшли до висновку, що 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемола) може бути

перспективним для вивчення його церебропротекторних ефектів при ЧМТ, так як на сьогодні немає рекомендованого та доказового фармакологічного засобу, який би входив у протоколи лікування ЧМТ та доказово впливав на зменшення летальності та інвалідизації пацієнтів з травматичним пошкодженням ГМ [7, 9].

Малодослідженими або однобічно висвітленими є питання впливу адемолу на формування стероїдної нейротоксичності, яка приходить на зміну глутаматної ексайтотоксичності. Її розвиток пов'язаний із надмірним стресогенним впливом на пірамідні нейрони головного мозку та зони СА1 гіпокампу підвищених титрів кортизолу. Описані стреспротекторні властивості адемолу (актопротекторна дія), що дає змогу сподіватись на наявність у нього і антинейростероїдної дії в умовах ЧМТ [13]. Також цікавою є оцінка впливу адемолу на особливості патобіохімічного каскаду в нейронах (енергодефіцит, оксидативний та нітрозативний стрес) при травмі мозку. Насамкінець, представляє інтерес дослідити його дію на реалізацію нейроапоптозу та інтенсивність нейродеструктивних змін в цих умовах.

Дисертаційна робота виконана з дотриманням біоетичних норм, про що свідчить протокол № 3 від 03.04.2023 року засідання комісії з питань біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертацію виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт Вінницького національного медичного університету (ВНМУ) ім. М.І. Пирогова МОЗ України у рамках тем: «Пошук та розробка нових шляхів фармакологічної корекції порушень при ішемічному ушкодженні мозку та серця в експерименті», номер держреєстрації 0112U001939, та «Пошук та вивчення біологічно активних речовин серед природних сполук та продуктів хімічного синтезу» (номер держреєстрації 0118U001903, терміни виконання 2018-2022).

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – експериментально обґрунтувати підвищення ефективності первинної церебропротекції при черепно-мозковій травмі, шляхом застосування модулятора поліамінового сайту NMDA-рецепторів адемолу за новим призначенням із подальшим

встановленням нових фармакодинамічних аспектів впливу препарату на головний мозок.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити такі **завдання**:

1. Створити та апробувати модель черепно-мозкової травми у щурів, викликану дією потоку вуглекислого газу під тиском, патогенетично обґрунтовану для доклінічної оцінки потенційних церебропротекторів

2. Провести скринінг умовно-ефективної церебропротективної дози адемолу за динамікою показника летальності щурів в умовах модельної церебральної ішемії травматичного генезу.

3. Оцінити вплив курсової терапії адемолу в умовно-ефективній дозі на розвиток неврологічного дефіциту та мнемотропну активність у щурів із моделлю черепно-мозкової травми.

4. Дослідити дію адемолу умовно-ефективною дозою на динаміку церебральної та центральної гемодинаміки при черепно-мозковій травмі в басейні сонних артерій у щурів.

5. З'ясувати патобіохімічні та клітинні механізми церебропротекторної дії курсового введення адемолу умовно-ефективною дозою за його впливом на пул аденілових нуклеотидів, інтермедіатів вуглеводного обміну, стан оксидантно-антиоксидантної рівноваги та активність прозапальних цитокінів у головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою.

6. Оцінити патогенетичну роль курсового введення адемолу умовно-ефективною дозою на формування стероїдної нейротоксичності за рівнем кортизолу при модельній черепно-мозковій травмі.

7. Вивчити вплив адемолу на процеси нейроапоптозу та інтенсивність нейродеструктивних змін при модельній черепно-мозковій травмі за критеріями фрагментації ядерної ДНК, активності нейрон-специфічної енолази та рівнем білка S100, BDNF.

8. Методами молекулярного докінгу, хемо- та біоінформатики визначити молекулярну мішень адемолу, його вплив на β -адренорецептори, а

також оцінити можливість проходження препарату через ГЕБ порівняно із еталонними β -адреноблокаторами.

9. Розробити екстемпоральну технологію виготовлення назальної форми з адемолом, в досліджах *in silico* та дериватографічними методами вивчити сумісність діючих та допоміжних інгредієнтів назальної лікарської форми, оцінити консистентні та реологічні властивості назальної форми з адемолом.

10. Провести доклінічні дослідження інтраназальної лікарської форми, яка містить адемолом на моделі субарахноїдального крововиливу для перевірки її ефективності в лікуванні цереброваскулярної патології

Об'єкт дослідження: підвищення ефективності лікування черепно-мозкової травми.

Предмет дослідження: церебропротекторні властивості адемолу.

Методи дослідження: фармакологічні, патофізіологічні, біохімічні, морфологічні, цитологічні, функціональні, експериментальний, інструментальний, статистичний.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше змодельовано експериментальну модель черепно-мозкової травми різних ступенів важкості у щурів.

В роботі деталізовано та патогенетично обгрунтовано високу ефективність 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) в складі експериментальної терапії раннього періоду тяжкої ЧМТ. Вперше підтверджено доцільність використання адемолу (блокатора N-метил-D-аспартатних рецепторів), як первинного церебропротектора з поліфункціональними властивостями у гострий період ЧМТ.

В роботі вивчено та обгрунтовано можливість, доцільність та ефективність коригуючого впливу раннього призначення 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) в гострий період тяжкої ЧМТ. На основі вивчення результатів церебропротекторної підтримки тяжкої модельної ЧМТ доповнені наукові дані про можливість та доцільність використання адемолу,

як блокатора N-метил-D-аспаратних рецепторів, що володіє поліфункціональними властивостями впливу на перебіг тяжкої ЧМТ.

Вперше проведений порівняльний аналіз 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) в гострий період тяжкої ЧМТ та вивчені переваги й недоліки даного фармакологічного засобу з існуючими блокаторами N-метил-D-аспаратних рецепторів, які використовуються для фармакологічної корекції у хворих з ЧМТ. Доповнено наукові дані патогенетичних механізмів впливу адемолу, як первинного церебропротектора в гострий період тяжкої модельної ЧМТ.

Експериментальний аналіз патогенетичних механізмів впливу 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) в гострий період тяжкої ЧМТ дозволив уточнити закономірності змін центральної та церебральної гемодинаміки, зміни показників антиоксидантної рівноваги та енергетичного обміну в ГМ на фоні впливу блокатора N-метил-D-аспаратних рецепторів адемолу та визначити найбільш ефективну дозовану стратегію церебропротекторної підтримки, що здатна якнайкраще коригувати порушення при травматично пошкодженню головному мозку.

Вперше експериментально доведено, що рання церебропротекторна підтримка 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) при модельній тяжкій ЧМТ, сприяє зменшенню некрозу та апоптозу в ГМ, що в подальшому зменшує летальність та неврологічний дефіцит.

Доповнені наукові дані, що захисні патогенетичні механізми поліфункціональної дії 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) в складі терапії раннього періоду тяжкої ЧМТ базуються на усуненні: енергодефіциту, метаболічного ацидозу, зменшенні набряку та нейродеструкції мозку, корекції антиоксидантно-оксидантної системи, збереженні цитоархітектоніки ГМ, зменшенні апоптозу.

Наукову новизну підтверджено 2 патентами України на корисну модель.

Виготовлено назальну форму лікарського засобу, що містить адемолу. Експериментальними *in silico* та дериватографічними методами вивчено

сумісність діючих та допоміжних інгредієнтів назальної лікарської форми, досліджено консистентні властивості цієї форми. Встановлено реологічні властивості досліджуваного препарату. Опрацьовано екстемпоральну технологію виготовлення назальної форми з адемолом. Проведено доклінічні дослідження інтраназальної лікарської форми, яка містить адемолом для перевірки її ефективності в лікуванні цереброваскулярної патології.

Практична цінність дослідження. Змодельована нова експериментальна модель ЧМТ різних ступенів важкості у щурів дає можливість для скринінгу лікувальних властивостей різних фармакологічних засобів. В експериментальних умовах на різних за ступенем важкості моделях ЧМТ будуть вивчатися основні механізми захисного впливу лікарських засобів на травматично пошкоджений головний мозок.

Проведене наукове дослідження дозволило розробити нові експериментальні підходи до фармакотерапії тяжкої ЧМТ, що в подальшому може дозволити знизити летальність та зменшити неврологічний дефіцит у пацієнтів з тяжкою ЧМТ.

Отримані результати роботи експериментально обґрунтовують доцільність клінічного випробування фармакологічного засобу 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) в ін'єкційній формі для лікування черепно-мозкової травми. Наявні церебропротекторні властивості адемолу в умовах травматичного пошкодження ГМ є дуже важливими, так як враховуючи можливість парентерального введення та наявність впливу на первинні патогенетичні ланки травматичного пошкодження мозку, є всі підстави для його можливого призначення хворим у ранній період травми мозку. Отримані в дисертації дані значно розширюють уявлення механізмів церебропротекторної дії нових сполук модуляторів NMDA-рецепторів та підтверджують можливість проводити цілеспрямовані кроки, для подальшого клінічного вивчення впливу 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу).

Результати дослідження доповнили існуючі теоретичні знання про

перебіг ЧМТ на фоні фармакокорекції новими блокаторами NMDA-рецепторів, вони чітко підтверджують та обґрунтовують подальшу можливість застосування досліджуваних фармакологічних схем в клінічній практиці.

За матеріалами дисертації отримано два патенти на корисну модель 144919 Україна, МПК G 09 B 23/28 та 145038 Україна, МПК А 61 В 17/00, G 09 В 23/28, G 01 N 33/48. Результати дослідження впроваджено у навчальний та науковий процес кафедр фармакології, внутрішньої медицини №2 і біологічної та загальної хімії ВНМУ ім. М.І. Пирогова, кафедри фармакології Буковинського державного медичного університету, кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології національного медичного університету імені О.О. Богомольця, кафедри загальної та клінічної фармації Дніпровського державного медичного університету, кафедри фармакології та клінічної фармакології Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, лабораторії фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України.

Особистий внесок дисертанта. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням автора, особисто сформульовано ідею дослідження, проведено патентно-інформаційний пошук наукової літератури, визначено мету і завдання дослідження. Дисертант безпосередньо брав участь у всіх дослідженнях, включених до дослідницької програми роботи. Опрацьовано експериментальні моделі ЧМТ. Автор безпосередньо брав участь у проведенні статистичного аналізу результатів дослідження, його узагальненнях та зробив відповідні висновки. Самостійно виконав написання дисертації, сформулював висновки та практичні рекомендації з їх відображенням у періодичних виданнях. У працях, опублікованих у співавторстві, внесок дисертанта є визначальним.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення дисертації оприлюднені на: конгресі анестезіологів України (Київ, 2019), Подільській всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Невідкладна допомога, інтенсивна терапія та анестезіологічне забезпечення

важкохворих» (Вінниця, 2019), науково-практичній конференції з міжнародною участю молодіжна анестезіологічна конференція «Трищинські читання» (Київ, 2019), Proceedings of the 3rd Annual Conference «Technology transfer: innovative solutions in medicine» (Tallin, 2019), X Всеукраїнській науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології «Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової медицини» (Вінниця, 2019), IV Міжнародному медичному науково-практичного форумі «Медицина України – європейський вибір» (Івано-Франківськ, 2020), 40th International Symposium on Intensive Care & Emergency Medicine (Brussels, 2020), IV Подільській всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ключові питання невідкладної допомоги, інтенсивної терапії та анестезіології» (Вінниця, 2020), IV Міжнародному конгресі з інфузійної терапії (Київ, 2020), Всеукраїнській науково-практична Internet-конференції з міжнародною участю “Клінічна фармація в Україні та світі”, присвяченій 30-річчю заснування кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації НФаУ (Харків, 2023), науково-практична конференція «Клінічна фармакологія сьогодення: шляхи максимальної допомоги лікарській спеціальності» (2023 року., м. Вінниця).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 37 праць, з них 24 статті у фахових наукових виданнях, 2 деклараційних патенти України на корисну модель, 11 тез доповідей у матеріалах з’їздів і конференцій.

Об’єм та структура дисертації. Дисертація викладена на 359 сторінках комп’ютерного тексту і складається зі вступу, огляду літератури, розділу „Матеріали та методи дослідження”, 8 розділів власних досліджень, узагальнення результатів дослідження, висновків та списку літературних джерел, з них 98 – кирилицею та 348 – латиницею (займає 54 сторінки). Робота ілюстрована 65 рисунками та 32 таблицями.

РОЗДІЛ 1

КОРЕКЦІЯ ГЛУТАМАТНОЇ ЕКСАЙТОТОКСИЧНОСТІ, ЯК ПАТОГЕНЕТИЧНИЙ ВЕКТОР ЦЕРЕБРОПРОТЕКТИВНОЇ ТЕРАПІЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ

1.1 Патогенетичні ланки пошкодження нейронів головного мозку при черепно–мозковій травмі

Черепно–мозкову травму (ЧМТ) у практичній охороні здоров'я сьогодні називають "тихою епідемією" внаслідок зростання масштабів цієї проблеми, низькою обізнаністю стосовно її значущості та неповнотою епідеміологічних даних [34, 35, 36]. Щорічно в світі понад 10 млн. людей помирає, або шпиталізується в зв'язку з ЧМТ [37, 38, 39]. Травми, вбивства і самогубства є провідною причиною смерті в Сполучених Штатах Америки (США) та Європейському Союзі (ЄС) у осіб молодше 45 років [40, 41, 42]. Частота ЧМТ становить 1,8–5,4 випадків на 1000 населення і, за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), відзначається її щорічне зростання в середньому на 2% [38, 42, 43]. Темпи зростання поширеності ЧМТ в США (чисельність населення 276 млн чол.) оцінюються приблизно в 5,3 млн нових випадків щорічно, в ЄС (чисельність населення 330 млн чол.) – близько 7,8 млн [40, 41]. На частку ЧМТ припадає 9% смертності населення в світі та близько однієї третини всієї смертності від зовнішніх причин [36, 43]. Важкі форми ЧМТ (важкий забій мозку, його здавлення внутрішньочерепними гематомами, дифузне аксональне ушкодження) діагностують у 20–40% хворих з ЧМТ [40, 44]. З кожним роком спостерігається тенденція до збільшення числа більш важких ушкоджень мозку [35, 39]. Залежно від характеру травми мозку та тяжкості постраждалих летальність при ЧМТ коливається від 5 до 65% [42].

За даними Консенсусу з досліджень захворювань мозку в Європі, більше 700 тис. європейців страждають через наслідки ЧМТ [41]. Щорічно із загального числа вперше визнаних інвалідами внаслідок церебральних травм, травматичний генез інвалідності відзначається у понад 35% [35, 45].

Інвалідність внаслідок ЧМТ, як правило, є тривалою, і в 30–35% випадків встановлюється безстроково [36, 45].

В Україні ЧМТ щорічно отримують 100–200 тис. осіб, з них 11,5–13,5 тис. дітей до 15 років [47]. У структурі загального травматизму внутрішньочерепні травми становлять близько 4% [48]. З причин ЧМТ в Україні перше місце займають травми, отримані в побутових умовах (73,18%), друге – отримані на вулиці (12,83%), третє – дорожньо–транспортні (8,6%), четверте – виробничі (1,37%), п'яте – спортивні травми (0,37%) [47]. Ці дані дещо відрізняються від наведених ВООЗ для розвинених країн: в структурі ЧМТ також домінує побутовий травматизм, але його вага значно менше (40–60%) [36]. На дорожньо–транспортний травматизм припадає 20–30%, виробничий – 4–12%, спортивний – 1,5–2% [42].

У зв'язку з війною на Сході України, в останні роки визначається значне зростання, як загального травматизму загалом, так і мозкового травматизму зокрема [47, 48]. Пошкодження центральної нервової системи (ЦНС) в учасників бойових дій на Сході України займають друге місце після кульових та осколкових поранень тулуба та кінцівок, проте найчастіше діагностують поєднання загального та мозкового травматизму [48]. Тільки за період 2014 – 2016 рр. в неврологічний стаціонар Військово–медичного клінічного центру північного регіону надійшло більше 800 військовослужбовців із закритою ЧМТ, зумовленою вибуховою хвилею [47]. У сучасних війнах частота ЧМТ досягає 34,4% від загальної кількості поранених, а пошкодження черепу – 76% від кількості постраждалих неврологічного профілю [48]. Все це свідчить про те, що в сучасних військових конфліктах ЧМТ справляє значний вплив на боєздатність військовослужбовців [47].

Отже, на сьогоднішній день, ЧМТ є основною та найросповсюдженішою причиною інвалідизації і смертності осіб віком 20–40 років, коли смертність від ЧМТ у 10 разів вище, ніж від серцево–судинних захворювань, і в 20 разів вище, ніж від злоякісних новоутворень [39, 42]. На долю ЧМТ припадає 60% усіх випадків травм, а в структурі причин інвалідизації – 25–30% [49]. Це

зумовлює актуальність пошуку нових підходів до лікування ЧМТ, що в умовах військового конфлікту має суттєвий та визначальний вплив не лише на збереження здоров'я населення та зменшення соціально-економічного навантаження, а й на загальну обороноздатність нашої держави.

Згідно сучасних уявлень, патофізіологічні механізми пошкодження мозку при ЧМТ засновані на дії первинних і вторинних факторів [48, 50, 51].

Первинні ушкодження виникають безпосередньо в момент травми [52, 53]. Об'єм, кількість і локалізація первинних осередків ураження залежать від місця прикладання травмуючої сили, її інтенсивності і тривалості впливу [52, 54], відбувається пошкодження структури нейронів і гліальних клітин, виникають синаптичні розриви, порушення цілісності або тромбози судин [49, 55]. Серед первинних ушкоджень мозку найчастіше виділяють наступні: дифузні (дифузне аксональне і дифузне судинне ушкодження); локальні (контузія, розмозчення речовини мозку, локальне пошкодження аксонів, пошкодження судин з утворенням гематом); поєднання дифузного і локального ушкоджень [39, 54].

Загальновизнаним є твердження, що контузія, крововилив і набряк - первинні клінічні предиктори тяжкості ЧМТ [50, 56]. Обумовлюючи травматичну загибель клітин, що безпосередньо прилягають до ділянок травми, ці патофізіологічні явища часто розглядаються в якості основного неврологічного пошкодження [42, 49]. Після швидкоплинної загибелі клітин при травмі, в мозковій речовині розвивається складний комплекс мікроструктурних змін, який включає дифузне аксональне ушкодження, порушення капілярного кровотоку, ендотеліальну дисфункцію, дифузне пошкодження нейронів, що вносить істотний вклад в клінічний результат лікування [51, 56, 57]. Основними симптомами, котрі відображають гострі посттравматичні зміни, є втрата свідомості, запаморочення, головний біль, а також дефіцит уваги, пам'яті і моторних навичок [49, 56].

Основні закономірності гострих метаболічних змін у головному мозку пацієнта з ЧМТ були виявлені в ранньому посттравматичному періоді і описані

з використанням позитронно–емісійної томографії [42]. Ці аномальні патерни патологічного метаболізму ініціюються негайно і зберігаються аж до декількох тижнів після початкової, в тому числі і не важкої, травми [53, 58]. Спільними механізмами для всіх зон ураження в тканинах ЦНС є гіпоксично обумовлене нейростимулююче вивільнення глутамату в поєднанні з розладами іонного гомеостазу, а також розвиток вираженої мітохондріальної дисфункції з потужним клітинним дизергозом і порушенням реплікації біомембран [39, 52, 55, 59].

Самостійним вазогенним фактором первинного ушкодження є дифузний вазоспазм, який може визначатися до 48 годин після первинної травми [54, 60], його вираженість не пов'язана з тяжкістю первинного фактора ушкодження, вона мозаїчна, що вказує на самостійність судинної мережі головного мозку до сприйняття механічної травми [52, 53]. Мозаїчність вазоспазму більшість дослідників пов'язують з різним ступенем регіональної вираженості судинної дисфункції [42, 57, 58].

Чисто механічні пояснення пошкоджень головного мозку забезпечують деяке розуміння патернів травми, але не можуть повністю пояснити подальший розподіл дифузного аксонального пошкодження, особливо на клітинному і субклітинному рівні [39, 61]. Судинний компонент, безперечно, вносить додаткову гетерогенність в наслідки ушкоджень при ЧМТ з високими характеристиками міцності армуючих мозкову речовину судин (артерій) і нез'ясованим внеском в цю механіку нерівномірно розподіленого мікроциркуляторного русла [58, 62, 63]. Існує все більше доказів того, що ЧМТ руйнує гематоенцефалічний бар'єр. Механічне пошкодження бар'єрної функції викликає підвищену парацелюлярну проникність [61, 64]. Клінічно цей процес проявляється порушенням свідомості, пам'яті і здатності рухатися протягом тривалого часу [58]. Виникнення трансмембранного витоку розглядають і в якості можливого механізму аксонального пошкодження [65]. Попередні дослідження показали, що пошкодження цитоскелету відбуваються через порушення аксонального транспорту, вторинне накопичення везикул і органел

призводить до набухання аксонів [58, 65]. Це порушення є результатом дії цистеїнпротеаз, таких як кальпаїназа і каспаза, які руйнують цитоскелет [52, 58]. Патологічну активацію протеаз пов'язують з притоком іонів, зокрема Ca^{2+} і Na^+ , що відбувається через трансмембранний витік [53, 61]. У дослідженні в пробірці було показано, що швидка деформація клітинної матриці призводить до зниження нейрональної життєздатності при збільшенні концентрації колагену [57, 66]. Мембранні білки, такі як інтегрини, що раніше розглядалися дослідниками, як гіпотетичні ремодулятори аксональної морфології, також пов'язані з травматичною активацією каналів в сенсорних нейронах [54, 65].

Таким чином, патофізіологія первинних пошкоджень головного мозку при ЧМТ варіює від нанометрових інтегринів в нейронній мембрані до сантиметрової шкали опису матеріалу головного мозку і черепа. На сьогоднішній день опис процесів первинної травматизації при ЧМТ є складною проблемою, що беззаперечно потребує подальшого вивчення.

Вторинним патогенетичним пошкодженням головного мозку сьогодні приділяється особлива увага нейропатофізіологів, оскільки вони створюють найперспективнішу платформу для клінічноекфективних фармакологічних втручань.

Навколо вогнища первинного пошкодження формується зона пенумбри (зона перифокального гальмування), в якій клітини морфологічно не пошкоджені і зберігають свою життєздатність, але стають вкрай чутливими до найменших змін постачання кисню та поживних речовин [57, 61, 67]. У відповідь на первинне ушкодження, в клітині одночасно ініціюються деструктивні біохімічні процеси, котрі тісно взаємодіють між собою [39, 59, 68, 69]. Вторинні ушкодження не пов'язані з безпосереднім пошкодженням мозку та виникають внаслідок складних різноманітних патофізіологічних механізмів, які індукуються в момент травми та можуть бути обумовлені внутрішньочерепними або позачерепними факторами [57, 70].

Більшість нейрофізіологів, до внутрішньочерепних факторів вторинного пошкодження головного мозку відносять ексайтотоксичність (нейротоксичність

збуджуючих амінокислот), розвиток лактат–ацидозу, агіоспазм та судинну дисфункцію, утворення реактивних вільних радикалів кисню з активацією перекисного окиснення ліпідів, набряк мозку, розвиток аутоімунного запалення, процеси апоптозу і некрозу клітин, дефіцит ендогенних нейротрофічних факторів і т.д. [55, 60, 67, 71].

Ексайтотоксичність. За думкою багатьох дослідників, у момент травми відбувається активація метаболізму нейронів і глії, що призводить до виснаження запасів аденозинтрифосфату (АТФ), дефіциту енергії та деполаризації клітинних мембран [53, 60, 72]. Внаслідок деполаризації, активуються потенціалзалежні кальцієві канали та іони кальцію з позаклітинного простору починають надходити в клітину [57, 73]. Деполаризація мембран також призводить до викиду з клітини в пресинаптичну щілину "збуджуючих" нейротрансмітерів (зокрема, глутамату), які, накопичуючись в позаклітинному просторі, активують глутаматні N-метил-D-аспартат (NMDA), 2-аміно-3-гідрокси-4-ізоксазол-5-метил пропанову кислоту (AMPA)–рецептори і викликають мобілізацію іонів кальцію з внутрішньоклітинних депо [60, 74, 75]. Наслідком перевантаження клітини кальцієм є її пошкодження, обумовлене активацією фосфоліпаз, протеаз і нуклеаз, що призводить до порушення цілісності зовнішньої мембрани клітини і мембрани мітохондрій, переривання процесів окисного фосфорилування, синтезу білків з експресією клітинного генома [57, 76]. Надмірна активація AMPA–рецепторів збільшує приплив в клітину іонів натрію і хлору, ініціює і підтримує деполаризацію клітинної мембрани, що сприяє ще більшому надходженню в клітину іонів кальцію через іонні канали [77].

Потенціює цей ланцюг патологічних реакцій внутрішньоклітинний **лактат–ацидоз**, що виникає в умовах дефіциту енергії внаслідок невідповідності між підвищеним клітинним метаболізмом і зниженим постачанням кисню [59, 60, 78]. В експериментах доведено, що при зниженні рівня мозкового кровотоку до 55 мл/100 г в 1 хвилину починається пригнічення білкового синтезу, до 35 мл/100 г в 1 хвилину – активується гліколіз [79].

Починаючи з рівня мозкового кровообігу 20 мл/100 г в 1 хвилину формується енергетична недостатність, відбувається дестабілізація мембран нейронів і посилюється викид нейротрансмітерів [57]. Енергетичний дефіцит і лактат-ацидоз сприяють гліальній активації [78]. При подальшому зниженні кровотоку формується інфаркт мозку – некроз і апоптоз клітин у вогнищі ішемічного вторинного пошкодження [55]. Критичним є рівень об'ємного мозкового кровообігу в 10–15 мл/100 г в 1 хвилину, який обумовлює загибель і первинний некроз нервової клітини через 6–8 хвилин [78].

Порушення внутрішньоклітинного іонного гомеостазу, з одного боку, призводять до цитотоксичного набряку і осмотичного лізису клітин (некрозу), а з іншого боку – до ініціації ряду інших каскадів молекулярних біохімічних реакцій, серед яких ключова роль належить апоптозу, порушенню окисного фосфорилування і запаленню [52, 80].

Важливою складовою вторинного пошкодження мозку також вважають реактивні зміни перфузії мозкової тканини з формуванням мультифокальної **судинної дисфункції** [81, 82]. Так, гіперперфузія, часто виникає безпосередньо після отримання травми та призводить до вторинного пошкодження мозку внаслідок розвитку парезу судин і збільшення внутрішньочерепного тиску [71, 83]. Серед механізмів вазоспазму, більшість дослідників виділяють: постійну деполяризацию мембран гладких м'язів за рахунок зниження активності калієвих каналів, вивільнення ендотеліну, зниження продукції оксиду азоту (NO) та циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ), утворення вільних радикалів і простагландин-індуковану вазоконстрикцію [84, 85, 86].

Дія вільних радикалів кисню. Окислювальний стрес є одним із механізмів пошкодження нейронів при ЧМТ, що розвивається при взаємодії органічних сполук клітин (вуглеводів, амінокислот, дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК), фосфоліпідів мембран) з реактивними вільними радикалами кисню (супероксидом, перекисом водню і гідроксильними радикалами), які у великій кількості утворюються при підвищеному метаболізмі та в умовах гіпоксії [67, 68, 87, 88]. Надмірне утворення активних форм кисню (АФК) у

відповідь на ексайтотоксичність і виснаження клітинних антиоксидантних систем (супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази та каталази) індукує окиснення клітинних і судинних структур: окиснення білка, фрагментацію ДНК з інгібуванням мітохондріального електронно-донорного транспортного ланцюга [89, 90, 91].

Перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) є одним з типів нормальних метаболічних процесів, необхідних для існування організмів, і компонентом регуляторних систем, відповідальних за підтримання гомеостазу, адаптацію до несприятливих впливів, регуляцію функціонального стану клітини [59, 88, 92]. Рівень активності ПОЛ залежить від типу тканини та інтенсивності метаболізму в кожній з них [60]: найбільш виражене та тривале посилення активності ПОЛ спостерігається при гіпоксії ЦНС [67, 68, 71, 93]. Це обумовлено особливостями кровопостачання, високою інтенсивністю обмінних процесів в тканинах головного мозку, відсутністю в них запасів макроергічних сполук, великим вмістом поліненасичених жирних кислот (до 70% від ваги), нижчою в порівнянні з іншими тканинами, активністю ферментативних антиоксидантних систем (каталази, глутатіонпероксидази) [94].

Проведені дослідження показали, що АФК (супероксидний аніон–радикал – O_2^- , пероксид водню – H_2O_2 , гідроксильний радикал – $\cdot OH$, синглетний кисень – 1O_2 , пероксинітрит – $ONOO^-$) відіграють важливу роль у багатьох біологічних процесах [59, 67]. АФК можуть виступати, як вторинні месенджери у внутрішньоклітинних сигнальних шляхах [54, 92]. На сьогодні описано більше 20-ти "редокс-чутливих" факторів транскрипції, що реагують на зміну співвідношення прооксидантів і антиоксидантів, сприяючи розвитку окисного, або відновного стресу [92, 95]. Всі ці регуляторні фактори служать ключовими ланками клітинної проліферації, диференціювання та індукції апоптозу [89, 90, 96].

Ще однією мішенню активних форм кисню може бути Na^+/K^+ -АТФаза [97]. При нормальному функціонуванні нейрональна Na^+/K^+ -АТФаза споживає від 15 до 40% енергії клітини, направляючи її на підтримку іонних градієнтів

[59, 93]. Надлишкова активація глутаматних рецепторів і підвищення рівня синглетних радикалів призводить до необоротного пригнічення цього ферменту [98].

Одним із основних джерел супероксидного радикалу є фагоцити [99]. Генерування АФК фагоцитами, з одного боку, необхідно для реалізації захисних реакцій організму, а з іншого – відіграє велику роль в пошкодженні тканин [52, 60, 100]. Нормальна фагоцитарна функція лейкоцитів здійснюється тільки за участю активних форм кисню [2, 101]. У лейкоцитах існує спеціальна метаболічна система (НАДФН-оксидаза), яка цілеспрямовано продукує вільні радикали [102, 103, 104]. У відповідь на вплив певних хімічних речовин відбувається різке зростання швидкості утворення супероксидного аніон радикалу одночасно з різким збільшенням потреби в кисні, що, в свою чергу, призводить до збільшення генерації кисню [100, 105]. Цей процес відбувається дуже швидко, в зв'язку з чим і отримав назву "респіраторного вибуху" [95, 106]. В експерименті показано, що в умовах ішемії головного мозку саме активована НАДФН-оксидаза сприяє руйнуванню клітин гематоенцефалічного бар'єру [60, 107, 108].

Мембранні білки в умовах наростаючого вільнорадикального ушкодження руйнуються не тільки від прямої хімічної модифікації, але і від зміни "ліпідного оточення" внаслідок інтенсифікації ПОЛ [109, 110]. Вихід на зовнішню поверхню мембрани фосфатидилсерину і фосфотидилетаноламіну, поряд з активацією ПОЛ, здатний індукувати апоптоз шляхом запуску сигнальних систем і підвищення проникності мембран, наростанням концентрацій цитозольного Ca^{2+} і запуском експресії генів, що приймають участь в апоптозі [110, 111, 112].

У нормальних умовах вміст активних форм кисню контролюється ферментами антиоксидантної системи (супероксиддисмутазою, каталазою, глутатіонпероксидазою, глутатіонредуктазою), процесами відновлення НАДФ і субстратами низькомолекулярної антиоксидантної системи (сечовина, аскорбат, токоферол і ін.) [93, 103, 113]. При виснаженні антиоксидантних систем

шкідливий вплив вільних радикалів більш виражений.

У багатьох дослідженнях продемонстровано, що реакції окисного стресу тісно пов'язані з процесами, як енергетичного метаболізму, так і глутаматної ексайтотоксичності, виконуючи функцію замикаючої ланки цього "зачарованого кола" [57, 114]. АФК і продукти ПОЛ інгібують активність Na^+/K^+ -АТФази, посилюють порушення енергозалежного іонного транспорту, інгібують глутамінсинтетазу в астроглії, тим самим порушуючи зворотне захоплення і метаболізм глутамату, що сприяє наростанню його концентрації в синаптичній щілині [55, 109]. Вільні радикали змінюють структуру і порушують функції рецепторних білків, викликаючи їх гальмування, або навпаки, надмірну активацію [68, 96].

Відкриття потенціал-залежних і агоніст-залежних іонних каналів, пов'язаних з рецепторами збуджуючих амінокислот не лише посилює всі реакції глутамат-кальцієвого каскаду, але і індукує NO-синтазу [115, 116]. В останні роки обговорюється важлива роль в механізмах вторинного пошкодження головного мозку оксиду азоту (NO), що відноситься до сімейства сигнальних молекул з властивостями нейротрансмітера [59, 117, 118]. На відміну від інших нейротрансмітерів, він не резервується в синаптичних везикулах нервових закінчень і вивільняється в синаптичну щілину шляхом вільної дифузії. Джерелом NO (синтезованого з L-аргініну) в ЦНС є NO-синтаза ендотеліоцитів (ендотеліальна синтаза – eNOS), нейроглії і астроцитів (нейрональна синтаза – nNOS) [119, 120]. У фізіологічних концентраціях NO виконує надзвичайно різноманітні функції в ЦНС: регулює не тільки системний артеріальний тиск, але і регіональний тонус судин, контролює активність нейронів, ноцирецепцію, термогенез, регуляцію викиду нейромедіаторів, бере участь в процесах довгострокової потенціації, синаптичної передачі, синаптичної пластичності, нейроендокринної секреції, функціонування пам'яті, регулювання функціонального стану глутаматних NMDA-рецепторів, внутрішньоклітинного вмісту Ca^{2+} , рівня рН на тлі церебральної ішемії [118, 121, 122]. За умов токсичного впливу глутамату, у невеликих концентраціях NO

має протективну дію, реалізовану за рахунок активації синтезу циклічного гуанозинмонофосфату, інактивації SH-групи NMDA-рецепторів і зменшення концентрації внутрішньоклітинного кальцію [123]. NO проявляє і антиапоптичні властивості, зокрема, запобігає виходу цитохрому C, зменшує активацію каспаз, інактивуючи центр цих ферментів [53, 55]. В умовах ішемічного ушкодження, NO може покращувати кровопостачання мозку [52, 57].

У патологічних умовах накопичення надмірної концентрації NO забезпечується функціонуванням індукбельної NOS (iNOS), синтез якої в імункомпетентних клітинах стимулюється інтерлейкіном 1 і 2, інтерфероном, фактором некрозу пухлин- α (ФНП- α) [124, 125, 126]. В експерименті показано, що в гострому посттравматичному періоді ЧМТ інгібування eNOS на тлі високої активності iNOS погіршує кровопостачання та сприяє прогресуванню набряку головного мозку [52, 120]. При дослідженні мозку загиблих від ЧМТ встановлено, що рівень експресії iNOS різко наростає вже через 4–8 годин після забиття головного мозку, максимальна активність її реєструється через 24–48 годин і зберігається підвищеною ще 10 діб [59]. Тканинні ізоформи ферменту кальцій кальмодулін-залежні і накопичення надлишку кальцію завжди супроводжується підвищенням рівня NO [127, 128, 129]. Високі концентрації NO різко індукують апоптоз і сприяють пошкодженню мозку за рахунок збільшення частоти емболізації судин мікроциркуляторного русла в результаті вираженого вазоспазму [52, 82, 116]. Токсичну дію надлишку NO вчені пов'язують з порушенням мітохондріального окисного фосфорилування, утворенням пероксинітриту та гіперактивацією ПОЛ, ковалентною модифікацією білків при взаємодії з їх SH-групами, пошкодженням ДНК, а також посиленням недостатності трофічного забезпечення головного мозку [116, 118, 130].

Згідно уявлень нейрофізіологів, токсичний, або захисний вплив NO визначається його концентрацією, локалізацією, джерелом синтезу і оточуючим середовищем [129, 131]. Необхідно відзначити, що такі різні ефекти притаманні

багатьом модуляторам ЦНС, вільним радикалам і антиоксидантам [132], навіть ступінь активації/деактивації NMDA-рецепторів є визначальним як для нейротоксичних ефектів збудливих амінокислот, так і для їх протективного впливу [133, 134].

При ЧМТ часто виникає **набряк мозку** і пов'язаний він як з первинними, так і вторинними пошкоджуючими факторами [135, 136]. Вазогенний набряк мозку пов'язаний з порушенням властивостей гематоенцефалічного бар'єру [64, 137]. Експериментально підтверджено, що в результаті збільшення проникності мозкових капілярів в позаклітинний мозковий простір виходять розчинені в плазмі речовини, збільшується кількість рідини в інтерстиції, що збільшує позаклітинний об'єм [138, 139]. Цитотоксичний набряк мозку характеризується саме внутрішньоклітинним набуханням внаслідок збільшення проникності клітинних мембран [52]. Даний стан виникає безпосередньо за рахунок гіпоксії, енергетичного дефіциту і припиненням роботи АТФ-залежних мембранних переносників [3, 13]. Аналіз результатів проведених досліджень демонструє, що хоча цитотоксичний набряк мозку зустрічається частіше, ніж вазогенний у пацієнтів, які перенесли ЧМТ, обидва варіанти приводять до збільшення черепно-мозкового тиску і, як наслідок, до вторинної ішемізації тканини [140].

Реакції аутоімунного запалення. Низкою досліджень доведено, що в результаті первинного ушкодження в судинне русло потрапляють продукти структурної дезорганізації клітин, які є потужним стимулом розвитку реакцій аутоімунного запалення [105, 141, 142, 143, 144]. В ендотелії церебральних капілярів і на поверхні циркулюючих лейкоцитів експресуються фактори адгезії [145, 146]. Завдяки гістологічним дослідженням встановлено, що лейкоцити прилипають до стінки судин і мігрують з судинного русла в паренхіму мозку [99, 147, 148]. Великі скупчення гранулоцитів відзначаються в капілярах зони пенумбри [149, 150, 151]. Просвіт судин може бути повністю тромбованим гранулоцитами, що ще більше посилює порушену мікроциркуляцію [152, 153, 154]. Потрапляючи в паренхіму мозку, активовані лейкоцити (гранулоцити, макрофаги, моноцити, лімфоцити) починають

експресувати ряд поверхнево активних молекул (молекул головного комплексу гістосумісності, цитокінів і хемокінів, серед яких найбільш значущими є ФНП- α й інтерлейкіни), а також різноманітних цитотоксичних метаболітів (зокрема, попередників вільних радикалів – синтазу азоту і циклооксигеназу-2 – ЦОГ-2) [126, 155, 156, 157, 158]. В результаті активації реакцій запалення збільшується проникність гематоенцефалічного бар'єру і індукуються протромботичні властивості ендотелію церебральних капілярів [159, 160, 161]. Синтаза азоту в позаклітинному просторі перетворюється в високотоксичний пероксинітрит, а продуктами розпаду ЦОГ-2 є токсичні простаноїди і вільні радикали, які чинять шкідливий вплив на мембрани клітин і мітохондрій [105, 156, 162]. За думкою багатьох нейрофізіологів, важлива роль в запальній відповіді при пошкодженні мозку належить популяції клітин мікроглії [152, 163, 164]. Подібно лейкоцитам, активовані клітини мікроглії мають здатність до проліферації, фагоцитозу, експресії поверхнево активних молекул і продукції вільних радикалів [124, 165].

Загибель нейронів. В результаті ЧМТ загибель клітин може розвинути як за рахунок некрозу, так і апоптозу [39, 166]. Проведене гістологічне дослідження показало, що некроз виникає в результаті важкого механічного, ішемічного/гіпоксичного пошкодження з виділенням надмірної кількості збуджуючих нейромедіаторів і метаболічної недостатності, внаслідок чого відбувається аутоліз клітини [167, 168]. Утворений клітинний дендрит буде розпізнано як "антиген" і в результаті запалення буде заміщений рубцевою тканиною [52]. На противагу цьому процесу апоптозу піддаються морфологічно пошкоджені клітини з адекватним метаболізмом і трансмембранним потенціалом [52, 55, 166]. Апоптоз нейронів протікає за принципом ланцюгової реакції, яка починається через кілька годин після первинного ушкодження і може тривати протягом декількох днів і навіть місяців після травми, залучаючи до процесу не тільки клітини зони пенумбри, а й інтактні клітини [39, 52, 55, 166]. Патоморфологічними дослідженнями доведено, що руйнування клітини при апоптозі характеризується конденсацією ядра і цитоплазми і поділом клітини

на апоптотичні тільця [57]. Апоптоз може розвиватись двома механізмами – каспазозалежним і каспазозалежним [169]. Каспазозалежний апоптоз, в свою чергу, може протікати за двома механізмами: зовнішньому і внутрішньому [170]. Зовнішній механізм пов'язаний із взаємодією на поверхні клітини ФНП- α , або рецептором Fas з позаклітинним fas-лігандом, що призводить до тримеризації рецепторів з формуванням комплексів внутрішньоклітинних сигнальних молекул, котрі ініціюють активацію каспаз 3,8 або 10, що супроводжується необоротним пошкодженням клітини [60]. Ціла низка досліджень продемонструвала, що внутрішній шлях реалізується за рахунок стресового пошкодження органел клітини та вивільнення цитохрому С, який, взаємодіючи з ферментом Араф-1 (apoptotic protease activating factor-1), АТФ і прокаспазою-9, формує комплекс – апопсому [52, 59, 171]. Після виходу з мітохондрій цитохром С може блокувати рецептори кінозитол-1,4,5-трифосфату, що призводить до порушення гомеостазу кальцію [57]. Також, деякі вчені вважають, що цитохром С може запускати каспаз-12-обумовлений апоптоз [172]. Каспазозалежний апоптоз реалізується за участі апоптозіндукуючого фактору (AIF), останній відноситься до мітохондріальних флавопротеїнів, котрі вивільняються з мітохондрії після її мембранної деполяризації [53]. AIF-опосередований апоптоз розвивається в нейронах в умовах оксидативного стресу, що виникає при ЧМТ [105, 173]. Іншими мітохондріальними білками, причетними до розвитку апоптозу, є ендонуклеаза G, Htr2A / Omi і Smac / Diablo, проте їх роль у апоптозі нейронів після травми головного мозку залишається до кінця не вивченою [52, 172]. Крім того, дослідження продемонструвало, що активація полі-АДФ-рибозо-полімерази (poly (ADP-ribose) polymerase – PARP) не тільки призводить до смерті клітини в результаті некрозу, а й запускає в ній процеси каспазозалежного апоптозу [174].

Науковці доводять, що одночасно з процесами вторинних ушкоджень у відповідь на травму в клітині запускаються процеси **нейропротекції** і **нейрорегенерації**, основну роль в яких відіграють ендогенні нейротрофічні фактори (НТФ) – специфічні внутрішньоклітинні нейрорегуляторні білки, котрі

опосередковано впливають на геном клітини [52, 172]. Основними нейропротекторними властивостями НТФ є: обмеження ексайтотоксичності, гальмування процесів апоптозу, зниження швидкості агрегації патологічних білкових молекул, пригнічення запальної відповіді і запобігання утворенню вільних радикалів [175, 176]. Нейрорегенераторні властивості НТФ полягають в активації процесів нейрональної пластичності (утворення нових міжнейронних зв'язків) і нейрогенезу (підтримання необхідного рівня експресії ДНК, ріст, диференціювання і міграція в пошкоджену область нових нейронів) [55]. Проте, проведені на сучасному етапі дослідження доводять, що в умовах пошкодження при масивних вогнищах некрозу та ішемії нервової тканини вплив НТФ обмежений, що призводить до порушення трофічних і регенеративних функцій клітини і переважанню процесів вторинного ушкодження над процесами нейрорегенерації і нейрорепарації [53, 177].

До зовнішньочерепних факторів вторинного пошкодження мозку відносяться всі екстракраніальні порушення, які прямим або опосередкованим чином призводять до збільшення зони деструкції нейрональної тканини при ЧМТ [52]. Згідно аналізу літературних джерел, системними причинами вторинних ушкоджень мозку вважають артеріальну гіпотензію, гіпоксію, анемію, гіпер- і гіпокапнію, електролітні розлади, гіпер- і гіпоглікемію, порушення кислотно-основного стану та запальні реакції (так званий синдром системної запальної відповіді) [2, 59].

Отже, патофізіологічними механізмами вторинного пошкодження мозку є еволюційно вироблені каскадні біохімічні стресові реакції, які індукуються в відповідь на первинне ушкодження і розвиваються з плином часу. Приводячи до ішемії мозку вони істотно посилюють тяжкість стану постраждалих з ЧМТ, погіршують відновлення психічної і моторної діяльності хворих і підвищують ризик розвитку несприятливого результату. Аналізуючи результати проведених досліджень можна стверджувати, що патофізіологічні механізми пошкодження головного мозку при ЧМТ потребують подальшого дослідження, особливо актуальним залишається вивчення процесів, котрі приймають участь у

вторинному пошкодженні, оскільки ефективний фармакологічний вплив на визначаючі каскади відстроченої нейрональної смерті, може істотно вплинути на ефективність лікування хворих з гострим мозковим травматизмом.

1.2 Патогенетична роль активації NMDA–рецепторів у розвитку глутаматної ексайтотоксичності при черепно-мозковій травмі

Відповідно до класифікації "Комітету по клітинній загибелі" (Nomenclature Committee on Cell Death) слід виділяти типові і нетипові форми загибелі клітин в організмі [178]. Для мозку типовими формами загибелі клітин є апоптоз, некроз і аутофагія, нетиповими – некроптоз і ексайтотоксичність [179]. Різниця між ними визначається молекулярними механізмами і морфологічними особливостями клітинних змін [180]. Загибель нейронів відбувається, як в результаті нормальних фізіологічних процесів, так і при індукції пошкоджуючими факторами [181].

Найбільш вивчені механізми апоптозу – програмованої загибелі [179, 180]. Більшість патоморфологів виділяють два основних шляхи програмованої загибелі клітин: мітохондріальний (властивий самій клітині) і трансрецепторний (зовнішній) [73, 181]. На сьогоднішній день доведено, що обидва шляхи вимагають залучення протеаз (каспаз), активність яких регулюється різними протеїнами сімейства Bcl-2 [180]. Таким шляхом клітини гинуть при паркінсонізмі і аміотрофічному латеральному склерозі (що виявлено при моделюванні на тваринних моделях), імовірно також і при хорей Гантінгтона [179].

Вчені довели, що клітини, котрі гинуть в результаті некрозу, не дотримуються апоптотичного шляху передачі сигналу, але при цьому відбувається активація різних рецепторів, що призводить до втрати цілісності клітинних мембран і неконтрольованого вивільнення продуктів клітинної загибелі в міжклітинний простір [182]. Це викликає запальну відповідь в навколишніх тканинах [389]. Фактичною причиною загибелі при некрозі вважають різке падіння вмісту аденозинтрифосфату (АТФ) в клітинах до

критичного рівня, що несумісний з життям [183].

До типу програмованої загибелі клітин відносять аутофагію, яка є процесом лізосомальної деградації дефектних компонентів клітини і елімінування пошкоджених органел і білкових агрегатів [179, 184]. При аутофагії формуються спеціалізовані структури – аутофагосоми, всередині яких вміщується клітинний матеріал (органела, або частина цитозоля), котрий підлягає руйнуванню [181]. При злитті аутофагосом з лізосомами утворюються аутофаголізосоми, в яких відбувається розщеплення клітинного матеріалу [184]. Стимуляторами запуску процесів аутофагії в клітинах багатоклітинних тварин є відсутність чинників росту, брак поживних речовин, або наявність в цитоплазмі пошкоджених органел, наприклад, мітохондрій, пероксисом і т. д. [179].

Більшість дослідників ексайтотоксичну загибель нейронів відносять до нетипової форми загибелі клітин, при якій спостерігається як апоптоз, так і некроз, а за деяких умов й аутофагія [162, 181, 184]. На сьогоднішній день встановлено, що ексайтотоксичність виникає в результаті надмірної, або тривалої активації рецепторів глутамату – основного збудливого нейромедіатора [185, 186, 187, 188, 189].

Гіпотезу ексайтотоксичної смерті нейронів вперше висунув J.W.E. Olney, експериментально встановивши, що збудливим аміноациддергічним нейротрансмітерам, – глутамату і аспартату – властива цитотоксичність. Активний науковий пошук відкрив, що при їх взаємодії з перезбудженими постсинаптичними рецепторами розвиваються дендросоматичні ураження без змін провідної частини нервової клітини [190, 191]. Умови, що створюють таке перезбудження, характеризуються підвищеним виділенням і/або зменшеним повторним захопленням переносника [189, 191]. Ексайтотоксичність (від англ. to excite – збуджувати, активувати) (ЕТ) – патологічний процес, що веде до пошкодження та загибелі нервових клітин при багатьох неврологічних порушеннях, таких як черепно-мозкова травма (ЧМТ), інсульт, глаукома, розсіяний склероз, або нейродегенеративні захворювання [192, 193, 194, 195].

Встановлені послідовні стадії розвитку як гострої ("класичної"), так і "повільної" ЕТ. Зокрема, на думку багатьох дослідників, процес "гострої" ексайтотоксичної нейродегенерації має місце при церебральній ішемії, мозкових інсультах, гострій ЧМТ [194, 196]. По механізму повільної ("метаболическої") ЕТ відбувається розвиток нейродегенеративних захворювань [186, 193]. Теорія ексайтотоксичності досить повно пояснює механізми загибелі нейронів при пошкодженнях головного мозку різного генезу [190, 191, 197, 198].

Огляд наукових джерел демонструє, що глутамат-кальцієвий каскад активується надлишковим вивільненням збуджуючих нейротрансмітерів глутамату й аспартату з закінчень ішемізованих нейронів у міжклітинний простір [199, 200]. У центральній нервовій системі (ЦНС) глутамат є одним з найбільш важливих та розповсюджених збудливих нейротрансмітерів та потужним чинником підтримки гомеостазу кальцію [201]. Глутамат пов'язаний з різними функціями мозку, такими як синаптична пластичність, навчання та довготривале потенціювання [186]. Нейротоксичність глутамату може реалізовуватися через всі підтипи іонотропних рецепторів (каналів): N-метил-D-аспартат (NMDA), 2-аміно-3-гідрокси-4-ізоксазол-5-метил пропанову кислоту (AMPA), кайнову кислоту і 2-аміно-4-фосфатнобутанову кислоту (L-AP4) та метаботропні рецептори (mGluR) [196, 201, 202]. Саме від функціонального стану іонних каналів залежать основні механізми патогенетичного каскаду ЕТ [184, 203]. Результати багатьох досліджень продемонстрували, що у нервовій системі швидка синаптична передача між нейронами здійснюється за допомогою медіаторів, що діють на ліганд-керовані іонні канали (ligand-gated ion channels – LGIC) різного типу [196, 204]. Ліганд-керовані канали являють собою вбудовані в ліпідний мембранний бішар високоспеціалізовані протеїнові комплекси, в яких рецептор, що зв'язує активуючу молекулу (ліганд) й іонний канал є частиною одного і того ж протеїнового комплексу, в зв'язку з чим LGIC називають також іонотропними рецепторами [188].

Зв'язування агоніста викликає конформаційні зміни даного мультимерного комплексу, що викликає швидке відкриття каналу, котрий активується протягом декількох мікросекунд [196]. Це призводить до збудливих, або гальмівних змін електричних властивостей мембрани, а в тому випадку, якщо канал проводить іони кальцію, до входу вторинного посередника [188].

Більшість сучасних учених поділяють іонотропні рецептори, або LGIC, на збуджуючі і гальмівні за характером потенційованих ефектів [188, 205]. До числа збуджуючих LGIC відносять катіон-селективні нікотинові ацетилхолінові рецептори (ACh), гідрокситриптамінові рецептори (5-HT₃), іонотропні глутаматні та пуринорецептори (P₂X). До числа гальмівних відносять аніонселективні рецептори γ -аміномасляної кислоти А типу (ГАМКА) і гліцинові рецептори [206].

Сучасні біохімічні дослідження визначили, що нікотинові ацетилхолінові (ACh), гідрокситриптамінові (5-HT₃) рецептори, ГАМКА і гліцинові рецептори (а також цинк-активовані канали, ZAC) являють собою пентамери та часто позначаються, як Cys-петельні рецептори через сталу наявність у всіх представників цього сімейства характерної Cys-петлі, утвореної дисульфідним зв'язком між двома цистеїновими (Cys) залишками в екстраклітинному домені субодиниць, що їх утворюють [204, 207, 208].

Субодиниці іонотропних рецепторів кодуються великою кількістю генів, і більшість з цих рецепторів є гетеромультимерами [209]. Комбінації різних субодиниць призводять до утворення великої кількості рецепторів з різними фармакологічними і біофізичними властивостями всередині кожного класу LGIC і різноманітному паттерну їх експресії в нервовій системі, що робить ці рецептори привабливою мішенню для створення нових терапевтичних агентів, здатних вибірково взаємодіяти з різними ізоформами рецепторів та є позбавленими побічних реакцій [210]. Тетрамерні іонотропні рецептори глутамату поділяються на підтипи: N-метил-D-аспартату (NMDA), α -аміно-3-гідрокси-5-етил-4-ізоксазол пропіонової кислоти (AMPA) і кайнату [209].

NMDA–рецептори є підтипом глутаматних рецепторів, які, на відміну від інших іонотропних рецепторів глутамату, володіють такими унікальними властивостями, як необхідність гліцину для їх активації, потенціалзалежний блок іонами магнію і високою проникністю для іонів кальцію (Ca^{2+}) [194, 211, 212, 213]. У збудливих глутаматергічних синапсах NMDA-рецептори зазвичай локалізовані разом з іншими глутаматними рецепторами, включаючи AMPA- і кайнатні рецептори, а також метаботропні глутаматні рецептори [210, 214]. Зусиллями багатьох науковців встановлено, що NMDA-рецептори вносять вклад в повільний компонент збуджуючих постсинаптичних токів і відіграють ключову роль в розвитку нервової системи, синаптичної пластичності, навчанні і пам'яті, а також у великій кількості патологічних процесів, включаючи ЧМТ, інсульт, нейродегенеративні (хвороба Паркінсона, хвороба Гентінгтона і хвороба Альцгеймера) і психіатричні захворювання (шизофренія) [195, 215, 216, 217]. Участь NMDA–рецепторів в цих процесах значною мірою пов'язана з проникливістю каналів NMDA-рецепторів для іонів Ca^{2+} , які є універсальними вторинними посередниками для багатьох внутрішньоклітинних каскадів і вхід яких в цитоплазму відіграє критичну роль в синаптичній пластичності та механізмах нейротоксичності [192, 194, 212, 218, 219]. З цими властивостями NMDA-рецепторів пов'язаний інтерес дослідників до виявлення модуляторів, які могли б посилювати їх функцію в ситуаціях, коли це необхідно, і послаблювати її при надмірній активації, не впливаючи на функцію NMDA-рецепторів, необхідну для нормальної синаптичної передачі.

Різноманітність субодиниць NMDA-рецепторів. В даний час ідентифіковано сім субодиниць NMDA рецепторів [210]. Згідно з первинною номенклатурою, до них відносили субодиницю NR1, чотири різних NR2 субодиниці (NR2A– D) і дві NR3 субодиниці (NR3A– B). Пізніше, при створенні єдиної номенклатури субодиниць глутаматних рецепторів, субодиниці NMDA рецепторів отримали назву GluN1, GluN2A– GluN2D, GluN3A і GluN3B. Функціональні NMDA рецептори є тетрамерами, утворені двома GluN1 субодиницями в поєднанні або з двома GluN2 субодиницями, або

з комбінацією GluN2 і GluN3 субодиниць [220, 221, 222].

Для активації NMDA–рецепторів необхідне одночасне зв'язування глутамату і гліцину [212, 222]. А. Yu, А.У. Lau у проведеному дослідженні довели, що гліцин–зв'язуючими субодиницями є субодиниці GluN1 і GluN3, а субодиниці GluN2 утворюють сайти зв'язування глутамату [223]. В мозку найбільш часто зустрічаються NMDA рецептори з комбінацією субодиниць GluN1 / GluN2A / GluN2B, GluN1 / GluN2A / GluN2C, GluN1 / GluN2B / GluN2D, GluN1 / GluN2A / GluN2D, які по– різному представлені в різних структурах мозку [87, 224, 225].

На сьогоднішній день встановлено, що NMDA–рецептори, утворені різною комбінацією субодиниць, володіють різними біофізичними та фармакологічними властивостями. NMDA–рецептори, які містять різні GluN2 субодиниці, володіють різною чутливістю до агоністів (agonist potency) [208, 225, 226]. Вчені дослідили, що величина EC50 для активації глутамат гетеромерних GluN1 / GluN2D рецепторів (0,5 мкМ) нижче ніж для GluN1 / GluN2A рецепторів (3– 5 мкМ), а GluN1 / GluN2B і GluN1 / GluN2C субодиниці мають проміжні величини EC50 [109]. А. Gibb, К.К. Ogden, М.Ј. McDaniel et al. визначили, що GluN1 / GluN2A і GluN1 / GluN2B мають більшу величину провідності одиночних каналів (50, 40 pS), ніж GluN1 / GluN2C і GluN1 / GluN2D рецептори (36, 22 pS; і 36, 16 pS) [227]. Окрім того, гетеродимерні GluN1 / GluN2 NMDA-рецептори мають різну ймовірність відкриття, яка в ізольованих мембранних фрагментах становить ~ 0,5 для рекомбінантних GluN1 / GluN2A, ~ 0,1 для GluN1 / GluN2B і <0,05 для GluN1 / GluN2C і GluN1 / GluN2D [109, 226]. Постійні часу деактивації (τ_{decay}) також залежать від типу GluN2 субодиниць і складають ~ 50 мс для GluN1 / GluN2A, ~ 400 мс для GluN1 / GluN2B, ~ 290 мс для GluN1 / GluN2C і > 1 с для GluN1 / GluN2D [109, 222].

Молекулярна архітектура підтипів NMDA–рецепторів. Подібно до AMPA- і кайнатного рецепторів, субодиниці NMDA–рецептора мають схожу мембранну топологію. Число амінокислотних залишків, що входять до складу

окремої субодиниці, коливається від 900 до 1480 [228]. Відмінності в розмірах субодиниць майже повністю визначаються довжиною внутрішньоклітинного карбоксильного C-термінального домену [221]. Іонна пора NMDA-рецепторів, архітектура якої має сильну схожість з архітектурою перевернутого калієвого каналу, утворена формуючими пору петлями всіх чотирьох субодиниць [221]. Формуюча пору послідовність подібна у всіх субодиниць NMDA-рецептора і визначає основні властивості проникності. A. Gibb, K.K. Ogden, M.J. McDaniel et al. у 2018 році встановили, що одна з ключових детермінант іонної проникності NMDA-рецепторів розташована в області апекса петлі, яка формує пору каналу, яку іноді називають Q / R / N сайтом за назвою амінокислотних залишків, розташованих в цьому положенні в AMPA-, кайнатного і NMDA-рецепторах [227]. Ця область частково детермінує проникливість для іонів Ca^{2+} , а також чутливість до іонів Mg^{2+} . Амінотермінальний домен утворений першими приблизно 350 амінокислотами білкової послідовності і взаємодіє з різними екстраклітинними аллостеричними модуляторами, такими як цинк і поліаміни, відіграє важливу роль в складанні субодиниць і впливає на деактивацію [222, 227].

Домени зв'язування глутамату і гліцину утворені двома частками, що позначаються як D1 і D2, які утворені спільно областю S1 (поліпептидний ланцюг між амінотермінальним доменом і першим трансмембранним доменом) і S2 (екстраклітинний поліпептидний ланцюг між другим і третім трансмембранними доменами) [208, 221].

A. Yu, A.Y. Lau у 2018 році довели, що субодиниця GluN1 (NR1) пов'язує гліцин, в той час як субодиниця GluN2 (NR2) пов'язує глутамат [223]. Ці області згорнуті в рухому дводольну структуру, що нагадує двостулкову раковину, яка містить місце зв'язування агоніста [223]. Нещодавно була отримана кристалічна структура інтактного NMDA-рецептора, яка дозволила виявити структурні особливості цих рецепторів у порівнянні з не-NMDA рецепторами [229]. Авторами отримано кристалічна структура гетеротетрамерного GluN1–GluN2B NMDA-рецептора: цей рецептор

утворений як димер GluN1– GluN2B гетеромерів з двохплощинною симетрією осей, що проходять через всю молекулу [229]. При цьому амінотермінальний і ліганд–зв’язуючий домени мають компактнішу упаковку в NMDA–рецепторі в порівнянні з не–NMDA–рецепторами, що пояснює, чому амінотермінальний домен регулює активність каналу NMDA–рецептора, але не AMPA–рецептора [208, 230].

На сьогоднішньому етапі розвитку патофізіології встановлено, що патогенез різних груп неврологічних захворювань пов’язаний з надмірною активацією рецепторів збуджуючих амінокислот [196, 231]. У зв’язку з цим питання, котрі стосуються регулювання глутаматних рецепторів різними ендогенними і екзогенними факторами, представляють інтерес як для теоретичної нейронауки, так і практичної фармакології.

Розглядаючи глутаматні рецептори, як терапевтичні мішені для лікування неврологічних захворювань, слід відзначити, що більшість антагоністів NMDA– рецепторів не продемонстрували ефективності у клінічних випробовуваннях на людях, через низку факторів, таких як побічні реакції, тощо [232]. Основним поясненням парадоксальних ефектів впливу на NMDA–рецептори, є їх роль як в нормальному функціонуванні клітини, так і в механізмах ексайтотоксичності. При повній блокаді всіх нейрональних NMDA–рецепторів за допомогою антагоністів, відбувається не лише гальмування механізму ET, але і блокада необхідної синаптичної пластичності та шляхів виживання клітин, що активуються NMDA–рецепторами [232, 233]. Доведено, що NMDA–рецептори відіграють значну роль і у виживанні клітин та в підтримці нейронального гомеостазу, водночас виконуючи основну роль і в ексайтотоксичній загибелі нейронів. Існує багато дискутабельних теорій щодо дихотомічної ролі NMDA–рецепторів [196, 221]. Одна з гіпотез пояснює варіабельність впливу NMDA– рецепторів в залежності від ступеню їх активації [221]. До прикладу, при низькоінтенсивному стимулюванні NMDA–рецепторів культивовані гранулярні клітини демонструють підвищене виживання клітин, однак при введенні високих доз агоністів визначається пошкодження клітин

[221, 233]. Аналогічно, культивовані нейрони спинного мозку при лікуванні низькими дозами антагоністів NMDA–рецепторів демонстрували підвищене виживання, тоді ж як високі дози запускали каскад ЕТ [234, 235]. Висновками даних досліджень стало твердження про оптимальний вміст внутрішньоклітинного кальцію. А його різке зменшення або збільшення може призводити до нейродегенеративних процесів [221].

Дослідження останніх років продемонстрували також визначну роль клітинного розташування NMDA–рецепторів та їх субодиниць у дихотомічних реакціях на вплив антагоністів [234, 236, 237]. Згідно даних 2018 року, представлених N. Scheefhals, H.D. MacGillavry, синаптично розташовані NMDA–рецептори, взаємодіючи з синапс–специфічними білками, можуть реагувати інакше, аніж ті рецептори, що розташовані пери–, або екстрасинаптично [238, 239, 240]. Ці дослідження підтверджують теорію ЕТ, котра отримала назву ”субклітинне розташування”. Прихильники цієї теорії стверджують, що стимуляція синаптичних NMDA–рецепторів активізує сигнальні шляхи, пов’язані з виживанням і пластичністю клітин, тоді як стимуляція екстрасинаптичних NMDA–тригерних шляхів призводить до нейрональної загибелі [149, 236, 237, 240]. N.G. Glasgow, M.R. Wilcox, J.W. Johnson пригнічували активність екстрасинаптичних рецепторів, використовуючи екстрасинаптично–преференційний антагоніст NMDA–рецепторів – мемантин, що позитивно впливало на нейрональну пластичність та виживання нейронів [241]. Ефект від блокування NMDA–рецепторів може, певною мірою, визначатись їх синаптичним розташуванням [196, 234, 236, 237, 241].

Мітохондріальна перевантаженість іонами кальцію відіграє ключову роль у ексайтотоксичному пошкодженні нейронів [73, 191, 242, 243, 244]. Механізми, за допомогою яких накопичення Ca^{2+} в мітохондріях викликає дисфункцію цієї органели, все ще не достатньо досліджені. Однією з гіпотез, якій приділяється велика увага, є транслокація цитохрому С від мітохондрій до цитоплазми, за допомогою чого вона може активувати каспази і викликати

апоптоз [245, 246]. Як альтернатива, вивільнений цитохром С може також збільшити вироблення вільних радикалів мітохондріальним ланцюгом транспорту електронів на рівнях комплексів I, III та убіхінону, що призводить до неспецифічного клітинного ураження та некротичної морфології [182, 191]. Залежно від рівня цитохрому С, виділеного мітохондріями, кількість АТФ може бути недостатньою для завершення програми апоптозу [192, 246, 247]. Через це клітини можуть загинути через апоптоз або некроз, що продемонстровано на ексайтотоксичних моделях [202, 244].

На нашу думку, патогенетична роль активації NMDA–рецепторів у розвитку глутаматної ексайтотоксичності при черепно-мозковій травмі потребує подальшого вивчення, оскільки дана проблема залишається предметом дискусій, а подальші дослідження у цій області, є безперечно актуальними та перспективними, як для створення комплексного розуміння цитотоксичних реакцій, так і для розробки та впровадження медикаментозних препаратів, котрі здатні ефективно впливати на основні механізми вторинного пошкодження нейронів.

1.3 Основні напрямки лікування черепно-мозкової травми в контексті доказової медицини

Ведення пацієнтів з черепно-мозковою травмою (ЧМТ) на сьогоднішній день є вкрай актуальним проблемою, як нейрохірургічної, так і реанімаційно-неврологічної практики. Протягом перших годин після тяжкої ЧМТ допомога надається бригадами швидкої медичної допомоги, а в приймальних відділеннях стаціонарів - хірургами, травматологами та анестезіологами. В спеціалізованих центрах травми та лікувальних закладах III рівня (обласні лікарні) пацієнтам із тяжкою ЧМТ надається спеціалізована медична допомога за участю нейрохірургів. Вимоги сьогодення вимагають при наданні допомоги постраждалим, незалежно від рівня медичного закладу, де вона надається, дотримання сучасних діючих рекомендацій, котрі ґрунтуються виключно на доказовій медицині, що є відображенням результатів багатоцентрових

проспективних рандомізованих досліджень.

Контроль артеріального тиску та оксигенації. Лише один епізод гіпотензії при важкій ЧМТ подвоює летальність, а два або більше таких епізодів збільшують ризик смерті в 8 разів [248, 249, 250, 251]. До того ж, загальна тривалість епізодів гіпотензії є достовірним прогностичним параметром смертності після ЧМТ [128]. Тривала гіпоксія є визнаним незалежним прогностичним фактором ризику смерті при ЧМТ [252, 253, 254]. Тому ефективна реанімація, починаючи з догоспітального етапу, є першочерговим завданням у всіх постраждалих із ЧМТ. На початку допомоги при ЧМТ застосовуються алгоритм базової реанімації, визначають ступінь порушення свідомості і важкість травми за шкалою ком Глазго, а також розмір зіниць і їх реакцію на світло [1, 248, 255, 256, 257]. Показники менше 8 балів свідчать про значне пошкодження мозку і необхідність інтубації потерпілого. Показаннями для невідкладної інтубації також є відсутність захисного ларингеального рефлексу і порушення дихання, на які вказує гіпоксія – парціальний тиск кисню в артеріальній крові P_{aO_2} менше 60 мм рт.ст.; гіперкапінія – парціальний тиск вуглекислого газу (P_{aCO_2}) більше 44 мм рт.ст., порушення частоти та поява патологічних типів дихання [258, 259].

Заповнення об'єму рідини досягається переливанням ізотонічних розчинів, або свіжих еритроцитів – при необхідності [260, 261, 262, 263, 264, 265]. Згідно рекомендацій, слід використовувати ізотонічний розчин NaCl та уникати переливання розчинів глюкози, оскільки гіперглікемія погіршує прогноз та є несприятливим прогностичним фактором при госпіталізації хворого з ЧМТ, або в першу добу його перебування у відділенні інтенсивної терапії, а також протягом 6 міс після важкої травми [266, 267, 268, 269].

В 2014 році В. Elkon, J.R. Cambrin, E. Hirshberg, S.L. Bratton опублікували результати власного дослідження по вивченню впливу рівнів глюкози в плазмі крові на наслідки ЧМТ у дітей [270]. Високий рівень глюкози в крові був пов'язаний з 3,5-кратним збільшенням поганого прогнозу, у порівнянні з нормальними рівнями глікемії, скоригованими з тяжкістю травми та серцево-

судинною нестабільністю [270].

Значний інтерес як для наукової спільноти, так і для практичної медицини представляють результати аналізу 104 досліджень, присвячених впливу гіперглікемії на прогноз дорослих пацієнтів з ЧМТ, проведеного J. Peffer, C. McLaughlin. З публікацій, котрі ввійшли до даного дослідження, в абсолютній більшості визначався негативний вплив підвищених рівнів глюкози на прогноз хворих з мозковим травматизмом. Лише в одному дослідженні не виявлено суттєвих зв'язків між рівнем глікемії та смертністю [268]. Більше того, у 2015 році P.L. Bosarge, T.H. Shoultz, R.L. Griffin, J.D. Kerby довели, що і стрес-індукована гіперглікемія асоціюється з статистично значимим зростанням смертності у хворих з ЧМТ [262]. Дане дослідження проведено на методологічно високому рівні, у досліджуваній групі було 626 хворих, що робить дане дослідження вагомим та переконливим.

Згідно сучасних рекомендацій, артеріальний тиск (АТ) необхідно постійно моніторувати, не допускаючи артеріальної гіпо- та гіпертензії. Не допускається гіпоксемія ($PaO_2 < 60$ мм рт.ст. або насичення гемоглобіну артеріальної крові киснем $SpO_2 < 90\%$) [254, 272, 273].

Гіперосмолярна терапія. Підвищення внутрішньочерепного тиску (ВЧТ) слід усувати інтенсивно, оскільки воно є основним фактором ризику несприятливого результату травми в гострому періоді [248, 251, 254]. Гіпервентиляція знижує ВЧТ, зменшуючи об'єм крові в тканинах головного мозку. При цьому можлива його ішемія, тому її доцільно здійснювати по строгих показках: швидке погіршення неврологічного статусу, поява грубої вогнищевої симптоматики (анізокорія, геміпарез) [255, 274, 275].

Гіперосмолярна терапія – ефективний метод зниження ВЧТ. Осмотичний діуретик манітол при ЧМТ ефективно застосовують протягом десятків років, доведеною є його протинабрякова та діуретична дія [260, 276, 277]. Манітол підвищує осмотичний тиск плазми, сприяє переходу рідини з тканин в судинне русло, збільшує об'єм циркулюючої крові. Манітол ефективний для контролю підвищеного ВЧТ і застосовується в дозі від 0,25 г/кг до 1 г/кг маси тіла [249,

250, 258, 276]. Використання манітолу для контролю рівня ВЧТ, згідно діючих рекомендацій, повинно обмежуватись випадками наявності у пацієнта ознак транстенторіального вклинення, або прогресуючого неврологічного погіршення, не пов'язаного з екстракраніальними причинами [249, 254].

Слід відзначити, що не дивлячись на застосування гіперосмолярних розчинів при ЧМТ, предметом наукової дискусії тривалий час залишався вплив манітолу та гіпертонічного розчину хлориду натрію на коагуляцію та тромбоцитарну функцію. У 2017 році Н. Wang, Н. Cao, Х. Zhang et al. здійснили проспективне, рандомізоване подвійне сліпе дослідження, в котрому продемонстрували відсутність істотного впливу даних розчинів на коагуляційний та тромбоцитарний гемостаз у хворих з ЧМТ [15].

Клінічна нейрореаніматологія та науковці очікують результатів мультицентрового РКД COBI (COntinuous hyperosmolar therapy for traumatic Brain-Injured patients) - це перший рандомізований контрольний аналіз, який дозволить визначити, чи постійна гіперосмолярна терапія у пацієнтів з ЧМТ покращує наслідки при мозковому травматизмі [278]. Дослідження розпочате у 2017 році А. Roquilly, S. Lasocki, J.D. Moyer et al. [110]. Протокол COBI був затверджений етичним комітетом Парижа Іль-де-Франс VIII та буде здійснюватися відповідно до принципів Декларації Хельсінкі та Керівних принципів належної клінічної практики. Результати цього дослідження будуть розповсюджені шляхом презентації на наукових конференціях та публікації в рецензованих журналах та, імовірно, дадуть відповідь на ключове питання нейротравматології, котре є предметом наукових дискусій протягом багатьох років [278].

Профілактична гіпотермія. Згідно сучасних рекомендацій, профілактична гіпотермія асоціюється з незначним зниженням смертності порівняно з нормотермічним контролем [275, 279, 280].

О. Eroglu, Т. Deniz, У. Kisa у 2017 році опублікували результати дослідження ефектів терапевтичної гіпотермії на біохімічні та гістопатологічні маркери апоптозу, використовуючи травматичні моделі ураження головного

мозку та модель геморагічного шоку, отже гіпотермія може чинити нейропротекторний вплив шляхом зменшення маркерів апоптичного шляху, зокрема каспази-3 [281].

С.М. Atkins, Н.М. Bramlett, W.D. Dietrich у 2017 році опублікували проблемний огляд проведених досліджень, у котрому обговорюються патофізіологічні аспекти підвищення температури при мозкових травмах [156]. Наприклад, під час інтенсивних занять спортом підвищення температури є фізіологічною реакцією організму і сприяє відновленню спортсмена, можливо і підвищення температури при мозкових травмах володіє певними нейропротективними властивостями. Проте у проведеному огляді обговорюються також і результати доклінічних досліджень, котрі продемонстрували, що підвищення температури мозку до 39°C значно збільшує смерть нейронів у межах кори та гіпокампу та погіршує когнітивний дефіцит. Висновками даного огляду є те, що гіпертермія при ЧМТ носить змінний характер та потребує додаткового вивчення [156].

Важливим, на думку багатьох нейрофізіологів, є дослідження впливу температури на коагуляційний гемостаз при пошкодженні головного мозку [282]. Коагулопатія, котра досить часто розвивається при важкій ЧМТ асоціюється з поганими неврологічними наслідками та високою госпітальною смертністю [283, 284]. Тривалий час обговорювалась гіпотеза, згідно якої переохолодження можливо посилює коагулопатію при ЧМТ, проте, японські вчені Т. Hifumi, Y. Kuroda, K. Kawakita et al. у дослідженні В-НУРО (Brain Hypothermia) 2017 року довели, що м'яка гіпотермія у хворих з ЧМТ не асоціюється з порушеннями коагуляції [105].

До сьогоднішнього дня тривають наукові дискусії, як з приводу позитивного впливу гіпотермії при мозкових травмах, так і по оптимальних значеннях та термінах здійснюваної гіпотермії.

Відповідь на ці складні, проте життєво важливі питання, сподіваємось, дасть дослідження, котре розпочато у 2018 році J. Presneill, D. Gantner, A. Nichol et al.: POLAR-RCT (The Prophylactic hypOthermia trial to Lessen trAumatic

bRain injury-Randomised Controlled Trial) [285]. Це багатоцентрове (Австралія, Нова Зеландія, Франція, Швейцарія, Саудівська Аравія та Катар) РКД по вивченню раннього профілактичного охолодження пацієнтів з тяжкою травмою головного мозку. У даному трайлі порівнюються раннє та тривале профілактичне зниження температури до 33°C протягом 72 год зі стандартною нормотермією (температура 37°C). Оцінюватись будуть неврологічні результати, котрі включають задовільне відновлення, або помірну інвалідність, визначену через шість місяців після рандомізації [285].

Профілактика інфекцій. При інтубації трахеї повинні призначатись антибактеріальні препарати для того, щоб знизити ризик розвитку пневмонії. Однак, у сучасних рекомендаціях зазначено, що профілактична антибіотикотерапія не впливає ні на тривалість госпіталізації, ні на смертність [286, 287, 288].

Профілактика тромбозу глибоких вен. Згідно діючих рекомендацій, пацієнтам необхідно використовувати компресійний трикотаж з перших годин травми та продовжуватись до виписки зі стаціонару [255, 289]. Низькомолекулярні гепарини, або низькі дози нефракціонованого гепарину можуть використовуватись за умови надійного контролю за кровотечею [63, 70, 290, 291].

Внутрішньочерепний тиск. Моніторинг ВЧТ повинен проводитись в усіх пацієнтів із тяжким травматичним ушкодженням головного мозку (оцінка за шкалою ком Глазго від 3 до 8 балів після початкової рідинної ресусцитації) [251, 254, 292, 293]. Невідкладні заходи інтенсивної терапії повинні розпочинатись при стійкому (понад 10–15 хв) наростанні ВЧТ понад 20 мм рт.ст. [294, 295, 296, 297].

Алгоритм заходів щодо зниження ВЧТ: проведення штучної вентиляції легень (ШВЛ) із піднятим головним кінцем ліжка на 30–45°; анальгоседація з використанням препаратів короткої дії (фентаніл, пропофол); застосування осмотичних діуретиків (маніт у дозі 0,25–1 г/кг); широка декомпресійна трепанація черепа [112, 298, 299].

Оперативне лікування. При наявності епі- і субдуральних гематом зі зміщенням від середньої лінії на 5 мм і більше всі постраждалі повинні бути оперовані [84, 261]. При видаленні гематом відразу знижується ВЧТ [293, 301], поліпшується перфузія мозку [40, 174]. При виконанні операції в терміни до чотирьох годин істотно покращується результат. При припущенні про наявність гематоми (за даними комп'ютерної томографії) при підготовці до операції рекомендують помірну гіпервентиляцію ($\text{PaCO}_2 \approx 30$ мм рт.ст.), призначають манітол (1 г/кг) [40, 251, 274].

Також, згідно даних доказової медицини, рекомендовано підтримувати цільові показники церебрального перфузійного тиску в межах 65–75 мм рт.ст. [222, 296, 300].

Контроль показників церебральної оксигенації. Насичення гемоглобіну венозної крові киснем (в яремній вені) $< 50\%$, або напруження кисню тканин мозку менше 15 мм рт.ст. вважаються критичними пороговими значеннями [222, 255, 259].

Анестезуючі, анагетичні та седативні засоби. Високі дози барбітуратів рекомендуються для контролю підвищеного ВЧТ, рефрактерного до максимального стандартного медикаментозного та хірургічного лікування [248, 293, 303]. До і під час лікування барбітуратами необхідна стабільність гемодинаміки [254, 255, 304]. Профілактичне призначення барбітуратів до рівня ізолінії (burst suppression) електроенцефалограми не рекомендується [254, 305, 306].

М. Majdan, W. Mauritz, I. Wilbacher et al. провели аналіз доз барбітуратів у різних країнах Європи для лікування ЧМТ [307]: введення високих доз барбітуратів асоціюється з істотним зниженням ВЧТ у 69%, проте супроводжується більш тривалим періодом гіпотонії та зростанням потреби у вищих дозах вазопресорів, проте це не асоціювалось з зростанням летальності у постраждалих [307].

Пропофол застосовується для контролю ВЧТ, але не призводить до зниження летальності, або поліпшення показників результатів лікування до 6

місяців [293]. Високі дози та тривале введення пропофолу можуть призвести до серйозних ускладнень (синдром тривалої інфузії пропофолу) [97].

Седативна терапія є життєво важливою для лікування важкої травми головного мозку. Тим не менше, рівні седації, які є оптимальними, не вивчені [181, 308].

На нашу думку, значний інтерес представляють результати дослідження, проведеного у 2018 році К. Yan, L. Pang, H. Gao, et al., котрі вивчили вплив різних рівнів седації, керованих біспектральним індексом (BIS), на терапевтичні ефекти при важких ЧМТ [33]. Відмінності в тривалості перебування у відділенні інтенсивної терапії нейрохірургічних пацієнтів та результатів серед досліджуваних трьох груп (високий, середній та низький рівні седації) були незначними [33]. Такі неочікувані результати, безперечно, вказують на необхідність подальшого вивчення цієї проблеми.

Ведення нутрієнтів необхідне із першої-другої доби від моменту госпіталізації, при можливості, ентеральним шляхом [1, 258, 259, 309].

Багато лікувальних стратегій переглянуті завдяки результатам доказової медицини. Наприклад, на сьогоднішній день застосування фенітоїну, вальпроату визнане неефективним для попередження вторинних судом після ЧМТ [255, 310]. Профілактична гіпервентиляція та використання стероїдів не рекомендовані ні для покращення прогнозу, ні для зниження ВЧТ у хворих із вираженою мозковою травматизацією [131, 311, 312, 313, 314, 315]. Доведено, що у хворих із ЧМТ використання високих доз метилпреднізолону пов'язано зі збільшенням рівня смертності [316, 317, 318, 319, 320].

Розробка та впровадження в практику лікарів невідкладної неврології та нейрохірургічної практики нових препаратів, котрі здатні впливати на вторинне пошкодження нейронів у хворих з ЧМТ, дозволила суттєво впливати на відновлення таких пацієнтів, зменшувати тривалість перебування у відділеннях інтенсивної терапії, знижувати летальність, покращити реабілітацію та відновлення когнітивних функцій. Великі сподівання сучасної медицини на нейропротекторну терапію, стимулювали науковців всього світу на активний

пошук нових ефективних засобів впливу на патофізіологічні каскади розвитку нейронального пошкодження [63, 321, 322]. Дисбаланс нейромедіаторів на сьогоднішній день залишається найперспективнішою мішенню для фармакологічного впливу на вторинне ушкодження нейронів [323, 324, 325]. При ЧМТ спостерігається підвищений синтез нейротрансмітерів, що корелює з погіршенням прогнозу пацієнта із травмою головного мозку [322, 326]. Найбільший ушкоджуючий ефект притаманний глутамату, що запускає каскад ексайтотоксичності [327, 328]. Гіперактивація NMDA- та AMPA-рецепторів викликає надмірне надходження іонів кальцію в клітину з активацією фосфоліпаз, ендонуклеаз, каспаз, тощо; котрі руйнують цитозольні структури і призводять до запуску апоптозу клітини [52, 72, 73, 329]. У багатьох дослідженнях продемонстрована ефективність призначення антагоністів глутаматних NMDA-рецепторів. Блокада NMDA-рецепторів вважається однією з основних ланок нейропротекції [243, 326, 330].

У клінічній практиці часто виникає необхідність використовувати медикаментозні препарати, котрі виходять з рамок доказової медицини; обґрунтовані виключно власним досвідом лікаря-практика; результатами досліджень, що опубліковані у фаховій літературі та не мають протипоказань до призначення. Першочерговим, на сьогоднішній день, завданням науковців є розробка нових ефективних молекул, котрі б ефективно попереджували вторинне пошкодження нейронів та довели свою ефективність у коректно-спланованих дослідженнях.

1.4 Ефективність модуляторів глутаматної ексайтотоксичності при гострій цереброваскулярній патології травматичного генезу: досягнення, недоліки, перспективи подальших розробок та клінічного впровадження

Поглиблення уявлень про формування пошкодження мозку змінило погляди на стратегію патогенетичного лікування черепно–мозкової травми. Інтенсивна терапія спрямована перш за все на запобігання і зменшення вторинного пошкодження мозку [331, 332]. У відповідь на пошкодження

підвищується активність глутаматергічних нейронів, збільшується вивільнення глутамату і, як наслідок, поглиблюються цитотоксичні механізми [333]. При виснаженні адаптаційних можливостей розвиваються ацидоз, іонний дисбаланс, зростає концентрація збудливих амінокислот (в тому числі глутамату), утворюються вільні радикали [334]. Окислювальні радикали сприяють вивільненню цитокінів та надмірної кількості глутамату з пресинаптичних нервових закінчень, наступній потенціації цитотоксичних ефектів з розвитком нейрональної загибелі [335].

Одним з перспективних напрямків корекції церебрального гомеостазу є застосування препаратів, спрямованих на переривання швидких реакцій глутамат–кальцієвого каскаду [330, 332, 336, 337]. Число таких реально діючих препаратів, які пройшли рандомізовані клінічні дослідження (РКД) у хворих з ЧМТ, в даний час надзвичайно мало. Неоднозначність результатів клінічних випробувань по вивченню ефективності нейропротекторних впливів вплинула на те, що доцільність нейропротекторної терапії, на сьогоднішній день, залишається предметом гострих дискусій [335, 338, 339, 340].

Говорячи про нейропротекцію, в першу чергу слід мати на увазі попередження і зменшення пошкодження нейронів, що мають чітке доказове обґрунтування, тобто підтвержені в експериментальних і рандомізованих клінічних дослідженнях [341]. У сучасній клінічній фармакології нейропротекцію поділяють на первинну і вторинну [338]. Первинна – блокує швидкі реакції глутаматної ексайтотоксичності (ГЕ). Вторинна – зменшує інтенсивність патофізіологічного каскаду травматично–індукованої ішемії: блокує прозапальні цитокіни та молекули адгезії, гальмує реакції перекисного окиснення ліпідів, стимулює трофічні процеси, зупиняє загибель нейронів [330, 335].

В якості нейропротекторів запропоновано велика кількість препаратів з абсолютно різними механізмами дії. Однією з найбільш актуальних проблем в сучасній нейрофармакології є пошук ефективних антагоністів NMDA–рецепторів, як одних з найперспективніших, ГЕ–інгібуючих, препаратів [342,

343, 344, 345, 346, 347]. Антагоністи NMDA–рецепторів зменшують потік іонів кальцію (Ca^{2+}) в клітину через антагоністзалежні кальцієві канали [209, 348, 349, 350, 351, 352]. У більшості літературних джерел їх класифікують, як неконкурентні і конкурентні. Найбільш дослідженими є неконкурентні NMDA–антагоністи: декстрорфан, церестат, дизолцепін, фенциклідин, кетамін, магній, амантадин (зв'язують фенциклідинрозпізнавальний сайт на NMDA–асоційованих каналах) та конкурентні NMDA–антагоністи: селфотел (зв'язують глутаматрозпізнавальний сайт на NMDA–асоційованих каналах) [332, 335].

Експериментальне дослідження антагоністів глутаматного сайту NMDA–рецепторів селфотела в умовах доклінічних досліджень на тваринних моделях гострої мозкової ішемії травматичного генезу продемонструвало достовірне зменшення неврологічного дефіциту, локалізацію зони мозкової ішемії та зупинку нейрональної загибелі [207]. Однак виявлені важкі побічні дії (ажитація, сплутаність свідомості, дихальні порушення, тенденція до збільшення смертності) виявились основою для припинення клінічних досліджень [353, 354].

В 2016 році польськими вченими – Вроцлавського університету – Z.A. Dziuganowska, K. Slepokura, J.N. Volle et al., синтезований ряд фосфонопіперидилкарбонових кислот, аналогів селфотелу [178]. Серія ароматичних складних ефірів була одержана за допомогою реакції перехресного зв'язування з каталізатором паладію (Hirao coupling), диалкілфосфітів з бромпіридинкарбоксилатами, з подальшим їх гідролізом. Кілька сполук одержували, як монокристалічні структури. Попередні біологічні дослідження, проведені на культурах нейронів, свідчать, що отримані сполуки володіли високою блокуючою активністю до NMDA–рецепторів та є перспективними по відношенню до подальшого вивчення їх нейропротекторних властивостей [355].

Клінічний та науковий інтерес представляють препарати – антагоністи гліцинового сайту, які по силі нейропротективної дії не поступалися і були більш безпечними ніж стандартні антагоністи NMDA–рецепторів [356]. В

теперешній час найбільш вивчені два препарати цієї групи – GV-150526 (gavestinel) і ACEA-1021 [356]. Клінічні випробування цих молекул також носять суперечливий характер. Так, американськими вченими S. Warach, D. Kaufman, D. Chiu проведено дослідження 75 пацієнтів з мозковими інсультами (34 хворих отримували gavestinel, 41 – плацебо), протягом 3 місяців [22]. Відповідно результатам проведеного дослідження, зроблені висновки, що gavestinel не впливав ні на зону інфаркта головного мозку, ні на зону ішемії [285].

Значний науковий інтерес викликали результати великого РКД, проведеного у Великобританії, результати котрого опубліковані 2000 року в журналі Lancet [357]: 891 пацієнт отримував gavestinel, а 897 – плацебо. Результати 721 пацієнтів, які отримували gavestinel, проаналізовані по первинній кінцевій точці через 3 місяці, трактовані, як "добрі" у 246 (34,1%), "помірні" у 136 (18,8%) та "несуттєві" в 339 (47,0%), у порівнянні з 256 (34,9%), 133 (18,1%) та 345 (47,0%) відповідно у 734 пацієнтів, які отримували плацебо ($p = 0,8$). Смертність за 3 місяці становила 147 (20,4%) у групі gavestinel і 138 (18,8%) у групі плацебо. Суттєві відмінності не визначались і в серйозних побічних реакцій між групами [357]. Отже, на сучасному етапі, gavestinel не довів свою ефективність у лікуванні гострої церебральної ішемії.

Ефективність ACEA-1021 доведена на тваринній моделі ішемії мозку, гарний профіль безпеки у доклінічних дослідженнях показали, що цей клас антагоністів NMDA-рецепторів є перспективним по відношенню до його нейропротекторної оцінки в подальшому [358]. Проте, необхідно відзначити, що клінічні дослідження ACEA-1021 у пацієнтів з мозковими інсультами було припинено, в основному через низьку розчинність і поганий метаболізм препарату, що призвело до утворення кристалів в сечі в деяких пацієнтів [357]. Значний інтерес викликають синтезовані модифіковані сполуки, такі як ACEA-1416, з покращеними властивостями, такими як більш висока ефективність *in vivo* і покращений метаболізм [359].

Найбільш ранні дослідження присвячені антагоністам фенциклідинового

сайту NMDA–рецепторів – декстрорфану, церестату, дизоцелпіну [341]. Вексперименті вонидостовірно скорочувализони інфарктних змін при фокальній ішемії головного мозку, зменшували смертність тварин [341]. Проте, необхідно відзначити, що клінічні дослідження цихпрепаратів були зупинені через суттєві побічні реакції(ністагм, катаплексія, локомоторні порушення, галюцинації та ін.) [340, 360].

Дослідження інших антагоністів фенциклідинового сайтуNMDA–рецепторів були більш успішними.Такі антагоністи NMDA–рецепторів, як рилузол, фелбамат, кетамін, амантадин, мемантин, сульфат магнію на даний час використовуються в неврологічній практиці, проте ефективність даних молекул при ЧМТ продовжує вивчатись [214, 332, 361, 362].

Рилузол був створений у Франції в 80 роках минулого століття для лікування хронічних нейродегенеративних захворювань [332, 361]. На сьогоднішній день, вплив рилузолу на ГЕ пояснюється блокадою натрієвих каналів глутаматвмісних нейронів та, відповідно зниженням пресинаптичного вивільнення глутамату; блокадою кальцієвих каналів з інгібуваннямNMDA–рецепторів та блоком зворотнього захоплення глутамату за рахунок підвищення активності транспортерів глутамату в глії [214]. Рилузол має доведену ефективність та використовується в лікуванні бокового аміотрофічного склерозу [214, 361]. Канадські вчені N. Nagoshi, H. Nakashima, M.G. Fehlings у 2015 році продемонстрували значне поліпшення неврологічних результатів за відсутності серйозних побічних реакцій рилузолу у лікуванні спинальної травми [361]. Проте, вплив рилузолу на лікування хворих з ЧМТ потребує подальшого дослідження.

Фелбамат розроблений, як протисудомний засіб для лікування епілепсії [332]. Інтерес наукової спільноти викликали результати нещодавніх досліджень, котрі продемонстрували, що фелбамат не являється неконкурентним антагоністом сайту зв'язування гліцину, як вважалося до цього часу, а більшою мірою є неконкурентним алостеричним інгібітором з помірною селективністю до рецепторів, які містять NR2B субодиницю [363]. Нещодавно

проведений мета аналіз (L.L. Shi, J. Dong, H. Ni et al.) до якого ввійшли чотири РКД, поставив під сумнів доказову базу клінічного застосування фелбамату [69]. Через значну методологічну неоднорідність, клінічну неоднорідність та відмінності в оцінках результатів не вдалося здійснити метааналіз результатів. Частота побічних реакцій була вищою при застосуванні фелбамату, порівняно з плацебо [364]. Дослідники стверджують, що необхідний подальший аналіз більш переконливими результатами та струнким методологічно–репрезентативним дизайном [364].

Кетамін – є блокатором відкритих каналів NMDA–рецептору, зв’язуючих фенциклідинрозпізнавальний сайт [253, 337]. Перспективність його використання для лікування хворих з тяжкою ЧМТ і геморагічним інсультом, що супроводжуються коматозним станом, визначається не тільки здатністю блокувати ефекти глутамату, але і в субнаркозних дозах стимулювати ретикулярну формацію головного мозку [356]. Так як кетамін є неконкурентним NMDA–антагоністом, він запобігає церебральним постішемичним порушенням [337]. Проте, необхідно відмітити, що ефект його впливу на церебральну циркуляцію залишається дискутабельним. Наприклад, є дані, що кетамін не підвищує мозковий кровообіг, а лише підтримує його на сталому рівні [332]. Кетамін інгібує NMDA–індуковане утворення цГМФ, що володіє модулюючим впливом на індуковану гіперкапнією церебральну вазодилатацію [341]. Крім того, кетамін може пригнічувати АТФ – залежні калієві канали, які також залучені в церебральну вазодилатацію [332]. Що стосується антиглутаматного ефекту, то кетамін і його метаболіт норкетамін здатні неконкурентно блокувати NMDA–рецептори кори головного мозку і спинного мозку з високим ступенем афінності [337]; кетамін здатний підвищувати резистентність нейронів до ішемії [338]. В експерименті у тварин спостерігали виживання нейронів і відновлення синаптичних відповідей після 10–30 хв ішемії або 25–40 хв аноксії при блокаді NMDA–рецепторів кетаміном [338].

Китайськими дослідниками J. Yan, H Jiang здійснений метааналіз

існуючих доклінічних та клінічних досліджень [365]. Вчені дійшли висновку, що ефект кетаміну залежить не лише від дози та частоти застосування, але також від інтенсивності подразників. Крім того, повторне використання кетаміну може бути нейротоксичним для мозку за відсутності шкідливих подразників та проявляти нейропротекторні властивості у тому самому мозку в присутності сильних больових подразників. На думку вчених, збалансування нейротоксичних та нейропротекторних ефектів кетаміну на головний мозок, може бути можливим, але необхідні подальші дослідження [324].

Саме тому, залишається вкрай актуальним пошук нових блокаторів NMDA–рецепторів, що відрізняються більшою селективністю дії і, відповідно, будуть позбавлені негативних (психоміметичних) властивостей кетаміну. Проте, вважаємо необхідним відзначити, що висока спорідненість та повна блокада NMDA–рецепторів на сучасному етапі розвитку нейронауки є також неприпустимою. Субстанції з високою спорідненістю до NMDA–рецепторів (наприклад, МК–801) виявили в РКД серйозні психотоміметичні і нейротоксичні побічні реакції, оскільки викликали повну блокаду рецепторів, пригнічуючи їх нормальну фізіологічну активність [337]. Викликаний ними психодефіцит вчені S. Deiana, A. Watanabe, Y. Yamasaki використовували навіть у своїх дослідженнях для створення моделі шизофренії на тваринних моделях і оцінки різних методів фармакологічного втручання [S. Deiana, 2015]. Амантадин, мемантин, магнію сульфат є речовинами з низькою спорідненістю до NMDA–рецепторів, тому саме на дослідження цих молекул протягом останніх років були направлені зусилля нейрофармакологів [366, 367].

Амантадин вперше з'явився на ринку в 60 роках минулого століття, як перший представник класу аміноадамтанів і як засіб для профілактики респіраторних інфекцій, викликаних вірусом грипу А, однак пізніше була відкрита властивість препарату впливати на екстрапірамідну симптоматику [368]. Терапевтичний ефект амантадину носить комплексний характер і заснований на: блокуванні NMDA–рецепторів глутамату, підвищенні синтезу

дофаміну в нігральних нейронах, посиленні вивільнення дофамінових везикул в синаптичну щілину і блокуванні зворотного захоплення дофаміну в пресинаптичні терміналі, м'якій холіноблокуючій дії [369, 370].

Більшість дослідників вважають, що амантадин є неконкурентним антагоністом NMDA– та дофамінових рецепторів [366, 369, 370]. Публікації, які висвітлюють нейропротективні властивості амантадина сульфату в терапії інсульту і травми, містять докази його ефективності [369, 370, 371, 372]. Результати дослідження В.І.Черній, І.А. Андроновой, Г.А. Городника, опублікованого 2015 року у хворих з тяжкою ЧМТ у відповідь на застосування амантадину сульфату (400 мг/добу, 7 днів), продемонстрували відновлення нейромедіаторного балансу, зниження глутаматергічної активності, активацію дофамінергічної активності, збільшення холінергічної активності, переважно в проекції так званої "когнітивної осі", що може бути одним з механізмів відновлення свідомості [201]. Застосування амантадину в гострому періоді важкої ЧМТ обумовлювало статистично значуще зниження ризику смерті ($p = 0,050$) [201].

При дослідженні амантадину, отримано багато неоднозначних та негативних результатів, зокрема спростовано твердження про антиоксидантні властивості препарату. При оцінці антиоксидантних властивостей у пацієнтів з гострою церебральною ішемією Z. Yalniz–Akkaya, V. Fidanci, A. Kilincetal. з'ясували, що медіанний рівень малонового диальдегіду істотно не відрізнявся між групами пацієнтів, котрі лікувались амантадином і плацебо, що дало змогу дослідникам піддати сумніву попередні твердження про істотні антиоксидантні властивості препарату [31, 366].

Американськими дослідниками F.M. Hammond, M. Sherer, J.F. Malec et al. вивчався вплив амантадину на збудження у післяопераційному періоді після ЧМТ [303]. Ними проведено паралельне, рандомізоване, подвійне сліпе, плацебо–контрольоване шестимісячне дослідження, в котрому прийняли участь 168 хворих з ЧМТ, котра супроводжувалась збудженням, які приймали амантадин у дозі 100 мг двічі на день, або плацебо, протягом 60 днів. Суб'єкти

оцінювалися при включенні в дослідження, на 28 день та на 60 день лікування з використанням клінічного обстеження та оцінкою нейропсихічного статусу [374]. Дослідження продемонструвало відсутність істотної різниці при прийомі амантадину як за клінічним перебігом, так і в покращенні нейрофункціонального статусу у хворих після ЧМТ, порівняно із плацебо [374].

В 2018 році опубліковані результати рандомізованого плацебо–контрольованого подвійного сліпого дослідження, проведеного іранськими вченими Н. Ghalaenovi, А. Fattahi, J. Koohpayehzadeh et al. про вплив амантадину на пацієнтів з ЧМТ [258]. Передумовою став той факт, що амантадин, як агоніст рецептора дофаміну, може стимулювати і сприяти відновленню нервової системи після травматичного ураження головного мозку. Проте, отримані результати не виправдали очікувань: протягом першого тижня та 6 місяців (починаючи з початку лікування) спостереження, призначення амантадину не призводило до істотного впливу на рівень свідомості, пам'яті, інвалідності, пізнання, смертності та ефективності лікування пацієнтів [375].

Загалом, вартий уваги той факт, що результати останніх досліджень спростовують наявність позитивного впливу амантадину на пізнавальні функції головного мозку. У 2018 році американськими дослідниками F.M. Hammond, M. Sherer, J.F. Malec et al. в мультицентровому РКД доведено відсутність впливу амантадину на когнітивні функції у пацієнтів з ЧМТ [374].

В 2017 році J.A. Gramish, B.J. Kopp, A.E. Patanwala провели дослідження ажитації у пацієнтів із ЧМТ, яким призначали амантадин, а також у тих, хто його не отримувал у відділенні інтенсивної терапії [376]. Це було ретроспективне когортне дослідження хворих з ЧМТ. Первинним критерієм порівняння була наявність ажитації. Вторинні критерії включали необхідність у додатковому симптоматичному призначенні галоперидолу, бензодіазепіну та опіоїдів, а також тривалість лікування у відділенні інтенсивної терапії. Збудження істотно частіше визначалось у пацієнтів, що приймали амантадин (38% проти 14%, $p = 0,018$). Також, результати продемонстрували, що пацієнти, які отримували амантадин, отримували більше опіоїдів у фентанілових

еквівалентах (10,3 [6,3–20,4] мкг / кг проти 7,4 [2,1–12,6] мкг / кг, $p = 0,009$) і довше перебували в відділенні інтенсивної терапії (4,5 [3–10] днів проти 3 [2–5] днів, $p = 0,010$), частота використання галоперидолу та бензодіазепіну істотно не відрізнялась у групах спостереження [376].

Принципово інший підхід до призначення амантадину запропонований німецькими лікарями S.M. Lehnerer, F. Scheibe, R. Buchert et al., котрі у 2017 році опублікували унікальний клінічний випадок 36-річної жінки з субарахноїдальною кровотечею, котра була викликана розривом аневризми правої середньої мозкової артерії та подальшим злякисним інфарктом правої півкулі, що призвів до стійкого вегетативного стану та важкого спазматичного тетрапарезу з рецидивуючою міоклонією [80]. Через дев'ять місяців хвороби, після початку лікування амантадином визначили приголомшливе пробудження хворої, повністю орієнтованої протягом декількох днів. Автори наполягають на продовженні клінічних випробувань амантадину, можливо за іншими показаннями (вегетативні стани, приглушення свідомості тощо) [80].

Мемантин, як і амантадин є представником класу аміноадамантанів [379, 380]. Препарат синтезовано в шістдесятих роках минулого століття, як потенційно гіпоглікемічний засіб [381]. Проте, як гіпоглікемічний засіб він виявився неефективний. Вподальшому засіб почав використовуватися в лікуванні деменції [379, 382]. Мемантин – це антагоніст відкритих каналів NMDA-рецептору, у якого сайт зв'язування перекривається з сайтом зв'язування Mg^{2+} і володіє досить низькою афінністю до NMDA-рецепторів, що дозволяє йому швидко від'єднуватися від них [380, 383]. Додатковим, важливим та експериментально доведеним механізмом дії мемантину є інгібування гіперфосфорилування білка tau і, таким чином, процесу нейродегенерації [332, 382]. Мемантин, на даний час є одним з ефективних засобів в лікуванні хвороби Альцгеймера та інших деменцій [326, 381]. Інтерес нейрофармакологічної спільноти викликало дослідження 2018 року, проведене С.С. Wang, Н.У. Wee, С.У. Hu et al., котре продемонструвало, що введення мемантину в гострій стадії ЧМТ, блокуючи NMDA-рецептори, сприяє

зниженню апоптозу нейронів та зменшенню нітрозивного стресу в пошкодженій корі на тваринних моделях – щурах [384]. Також, X. Wang, J. Chen, H. Wang et al. у 2017 році довели, що етанол–індуковане підвищення активності каспази–3 та апоптозу у щурів залежить від цитозольних рівнів кальцію та зменшується під впливом мемантину [385].

При проведенні клінічних випробувань, J.D. Long, Y. Liu, D.L. Jiao et al. у 2017 році довели здатність мемантину покращувати когнітивну функцію у осіб з метамфетамін–індукованим когнітивним дефіцитом [354].

Науковий пошук нових ефективних нейропротекторів призвів до того, що в у 2018 році японські вчені T. Kumamoto, M. Nakajima, R. Uga et al. розробили гібридні сполуки поліамінів та мемантину, котрі функціонують, як блокатори NMDA–рецепторів [57]. Більше того, синтезовані ними похідні триаміну з гуанідиновим фрагментом продемонстрували більш сильну антагоністичну активність, ніж мемантин [57].

Серед антагоністів NMDA–рецепторів своєю безпекою й тривалою історією клінічного застосування вирізняється сульфат магнію. Останнім часом виявлено ряд унікальних властивостей цього препарату. Іони Mg^{2+} беруть участь у багатьох обмінних процесах в центральній нервовій системі [362, 388, 389]. Більшість дослідників розглядають магній, як іон з нейроседативними властивостями, внаслідок його здатності блокувати проведення нервового імпульсу [390, 391]. В клінічній практиці, сульфат магнію тривалий час використовували, як антигіпертензивний засіб і засіб для зниження внутрішньочерепного тиску [388]. Встановлено, що іони Mg^{2+} блокують NMDA–асоційовані канали потенціалзалежним способом і, вступаючи з глутаматом в неконкурентний антагонізм, пригнічують його вивільнення, гальмуючи ексайтотоксичність [392, 332].

Магній є антагоністом іонів кальцію, як на рівні його мембранних каналів, так і всередині клітини [362, 389, 390, 391]. Підвищений вміст іонів Mg^{2+} всередині клітини призводить до підвищеної буферизації кальцію в мітохондріях і пригнічує опосередковану ним активацію ферментів, а також

перешкоджає виснаженню клітинних запасів АТФ [392, 393, 394]. Окрім дії на клітинному рівні іони Mg^{2+} володіють іншими властивостями: покращення мозкового кровотоку (шляхом безпосереднього впливу на тонус судин та внаслідок антагонізму до ендотеліну-1), протисудомними, протизапальними, антиагрегантними, антиоксидантними тощо [34, 260, 390, 392, 395, 396].

Не дивлячись на те, що сульфат магнію є давно відомим лікарським препаратом і за думкою багатьох неврологів "застарілим підходом", вивчення його патофізіологічних впливів активно продовжуються і сьогодні, відкриваючи нові горизонти до застосування в клінічній практиці. K.S. Vujovic, S. Vuckovic, Durovic A., et al. у 2018 році при дослідженні на щурах встановили, що пригнічення нейрональної NO-синтази є одним із патофізіологічних механізмів розвитку гіпотермії при введенні комбінації кетаміну та сульфату магнію [335].

J. Sun, H. Lin, G. He et al. у 2017 році продемонстрували, що сульфат магнію послаблює післяопераційну гіпералгезію, індуковану реміфентанілом, шляхом регуляції фосфорилування тирозину β -субодиниці NMDA-рецептора в спинному мозку [306].

В доклінічних дослідженнях було виявлено значне зменшення зони ішемії при використанні сульфату магнію; у хворих на ішемічний інсульт використання цього засобу в перші години захворювання покращувало кінцевий результат, а при моделюванні ЧМТ значно зменшувало рівень глутамату і апоптоз нейронів [391]. Ще у 2013 році P. Clerc, C.A. Young, E.A. Bordt et al. встановили, що сульфат магнію захищає від хронічної помірної стимуляції рецепторів глутамату та зберігає клітинний вміст АТФ при запуску реакцій ГЕ [286].

Подвійне сліпе РКД, проведене у 2016 році M.H. Jarahzadeh, S.T. Harati, H. Babaeizadeh et al. продемонструвало, що внутрішньовенне введення сульфату магнію може зменшити біль, та споживання морфіну, розвиток побічних реакцій у пацієнтів після важких оперативних втручань [76].

Проте, не можуть не привернути увагу наукової спільноти результати

мультицентрового дослідження MASH–II, у котрому вивчався вплив сульфату магнію на затримку церебральної ішемії, що розвинулась внаслідок субарахноїдальної кровотечі аневризматичного походження [399]. Введення сульфату магнію не продемонструвало суттєвої відмінності у впливі на зону ішемії та ішемічного пошкодження і цей факт дав поштовх до виникнення наукових суперечок щодо перспектив подальшого використання препарату в неврологічній та нейрохірургічній практиці [399]. В 2015 році J.F. Leijenaar, S.M. Dorhout Mees, A. Algra et al. провели субаналіз дослідження MASH–II, у котрому намагались визначити вплив глікемії на ефективність сульфату магнію при церебральній ішемії. Результати субдослідження продемонстрували, що коливання рівнів глюкози не впливало на відсутність статистичного покращення під впливом сульфату магнію на хворих з церебральною ішемією, викликаною субарахноїдальною кровотечею [265].

Паралельно, у 2018 році N. Chen, R.J. Xu, L.L. Wang et al. провели дослідження, результати котрого продемонстрували, що застосування сульфату магнію при ЧМТ, індукованій впливом радіаційного опромінення, гальмує зростання рівнів внутрішньоклітинного кальцію в пошкоджених нейронах та істотно підвищує редокс–потенціал шляхом збільшення активності супероксиддисмутази та мілопероксидази та зменшення концентрації малонового діальдегіду [186]. Аналіз імуногістохімії довів, що лікування магнієм зменшує швидкість апоптозу клітин головного мозку та активність каспази–3, відповідно. Також, після обробки сульфатом магнію визначалось зменшення експресії білка NF–κB та ICAM–1 [186]. Отже, магній може здійснювати нейропротекторний вплив при радіаційно–індукованій травмі головного мозку шляхом зниження перевантаження кальцієм, поліпшення окислювального фосфорилування та інгібування клітинного апоптозу. Крім того, магній значно знижував рівень білка NF–κB та ICAM–1 [186]. Висновки такого характеру можуть бути істотним підґрунтям до подальшого дослідження та застосування магнію в клінічній практиці при ураженнях головного мозку.

Нашу зацікавленість викликав опублікований I. Lingam, N.J. Robertson у

2018 році ретельний літературний огляд всіх вдалих та провальних досліджень застосування сульфату магнію в нейропрактиці [226]. Вчені прийшли до висновку, що потрібні подальші дослідження даного препарату, дослідження які б розкрили науці додаткові можливості його призначення при ЧМТ, які на сьогоднішньому етапі продовжують залишатись предметом наукових дискусій [226].

Таким чином, клінічні дослідження більшості ефективних в експерименті нейропротекторів – антагоністів NMDA–рецепторів, були припинені через виражені побічні реакції, а використання менш токсичних антагоністів не завжди було ефективним, цілий ряд нейропротекторів потребують додаткового більш детального вивчення.

Блокада активованих глутаматом AMPA–рецепторів має певні відмінності, порівняно з блокадою NMDA–рецепторів, включаючи потенційний захист кіркової сірої речовини та підкіркових ділянок білої речовини, скорочення вторинної активації NMDA–рецепторів і кальцієвих каналів [332]. В дослідженні на тваринах антагоніст AMPA–рецепторів YM872 демонстрував зменшення об'єму інфаркту мозку, співставимий з антагоністами NMDA–рецепторів [337]. Японські вчені Kawasaki–Yatsugi S., Ichiki C., Yatsugi S. провели дослідження нейрозахисних ефектів моногідрату YM872, антагоніста AMPA–рецепторів з високою розчинністю у воді [82], він значно знизив об'єм інфаркту мозку через 24 години після оклюзії інфаркт–залежної артерії, у дозах 20 і 40 мг/кг/год (інфузія в/в), при введенні протягом 4 годин відразу після оклюзії. Крім того, затримка введення YM872 (20 мг/кг/год інфузійної ін'єкції протягом 4 годин, починаючи з 2 або 3 години після оклюзії) також зменшила об'єм інфаркту та неврологічний дефіцит, виміряний за 24 год. Терапевтична ефективність YM872 зберігалася принаймні через сім днів після оклюзії інфарктної артерії у тварин, які отримували YM872 протягом 4 годин, починаючи з 2 години після оклюзії. Тобто рецептори AMPA сприяють розвитку пошкоджень нейронів після реперфузії, а також при ішемії в моделях фокальної ішемії, і що гострий ефект блокади рецепторів AMPA зберігається

протягом тривалого періоду часу. YM872 потребує подальшого вивчення на моделях гострої мозкової травми та гострої церебральної ішемії травматичного генезу [82].

Багато науковців вважають перспективним подальше клінічне дослідження нового антагоніста АМРА–рецепторів – препарату Perampanel, котрий продемонстрував свою ефективність у доклінічних дослідженнях [341]. Слід зауважити, що Perampanel схвалений у більш ніж 35 країнах, як додаткова терапія для купування судомних нападів. T. Chen, S.H. Dai, Z.Q. Jiang et al. у дослідженні 2017 року вивчали потенційні захисні ефекти препарату в моделі ЧМТ у пацієнтів [247]. Пероральне введення препарату в дозі 5 мг/кг не призводило до токсичних ефектів. Результати дослідження продемонстрували, що Perampanel суттєво ослаблює набряк головного мозку, покращує когнітивну функцію. Крім того, Perampanel помітно інгібував перекисне окислення ліпідів і пригнічував експресію прозапальних цитокінів TNF- α та IL-1 β [247]. Ці дані показують, що перорально активний антагоніст АМРА–рецепторів Perampanel забезпечує захист від індукованого ЧМТ нейронного пошкодження та неврологічної дисфункції внаслідок антиоксидантної та протизапальної активності. В даний час РКД ефективності та безпеки антагоністів АМРА–рецепторів тривають, хоча більшість дослідників не вважають їх перспективним напрямком в розробці нейропротекторної стратегії лікування.

Дія так званих антагоністів кальцію, або блокаторів кальцієвих каналів направлена на один з ключових механізмів клітинної загибелі – надлишковий вхід кальцію в клітину. Препарати цієї групи блокують потенціал–залежні кальцієві канали, однак не впливають на кальцієві канали, керовані через рецептори (NMDA, АМРА), тому їх ефективність обмежена [356]. Крім того, антагоністи кальцію мають істотні побічні реакції, зокрема вазодепресорний [332]. У зв'язку з цим багаточисельні РКД дали негативні результати. Xue Z, Song Z, Wan Y, et al. у 2017 році опублікували результати, котрі продемонстрували, що новий антагоніст кальцієвих каналів NPS2390 істотно

зменшує апоптоз нейронів на моделях ЧМТ у пацієнтів [29]. Позитивний вплив на мозковий кровообіг при ішемічному та постгеморагічному нейрональному враженні S-амлодипіну продемонструвало дослідження, проведене T.S. Ganshina, G.A. Kim, A.V. Gnezdilova et al. [199]. Проте, не дивлячись на те, що у деяких доклінічних та невеликих клінічних дослідженнях отримані обнадійливі результати, необхідно відзначити, що більш масштабні випробування в результаті вказували на відсутність будь-яких переваг антагоністів кальцієвих каналів при ЧМТ.

Тривають клінічні дослідження нейропротекторної активності антиоксидантів, котрі могли б впливати на вторинне пошкодження нейронів [122, 404, 405]. Проте, не дивлячись на широке застосування цих препаратів, позитивні результати у доклінічних дослідженнях, переконлива доказова база на сьогоднішній день відсутня. E.D. Hall, R.A. Vaishnav, A.G. Mustafa у своєму комплексному аналізі антиоксидантів, що були ефективними на доклінічному етапі на тваринних моделях ЧМТ, виділяють наступні: інгібітори перекисного окиснення ліпідів мембран: U83836E, ресвератрол, куркумін, OPC-14177 та ліпоева кислота; залізо-хелатор-дефероксамін і антиоксиданти, що містять нітрокислород, такі як альфа-феніл-бутил-нітрон і темпол [225]. Проходять випробування безліч інших сполук, з комплексним механізмом дії, проте на сьогоднішній день антиоксидантна терапія при ЧМТ, котра реально могла б істотно вплинути на вторинне пошкодження нейронів є ще питанням далекої перспективи.

Зовсім недавно, у 2018 році, в науковій літературі бурхливо обговорювалися результати клінічних випробувань нейропротектора-антиоксиданта NXY-059, розробленого компанією AstraZeneca, позитивні ефекти якого демонструвались не тільки в експериментальних, але і в клінічних дослідженнях (SAINTI). Однак, можливість поліпшення нейрофункціональних результатів не підтвердилася, у зв'язку з чим було проведено більш велике і ретельно сплановане дослідження SAINTII. Результати цього дослідження збентежили: препарат не продемонстрував жодних клінічних переваг

(порівняно з плацебо) у хворих з інсультами, хоча і підтвердив свою безпеку. Подальші дослідження препарату NXY-059 достроково припинені у зв'язку з сумнівною терапевтичною ефективністю.

Серед препаратів з мембран-стабілізуючою дією вивчається ефективність і безпека цитидину дифосфохоліну (цитиколіну). Значний інтерес наукової спільноти викликало дослідження 2018 року, проведене Н. Trimmel, М. Majdan, А. Wodak et al. в 14 австрійських травматологічних центрах, серед 778 пацієнтів з ЧМТ [406]. Ретроспективний аналіз продемонстрував, що у пацієнтів, в схему інтенсивної терапії котрих входив цитиколін, визначались нижчі показники, як ранньої госпітальної, так і відстроченої (6 місяців) смертності [406]. Вчені планують провести проспективне багатоцентрове рандомізоване контрольоване дослідження з цитиколіном у пацієнтів з важкою ЧМТ.

Визначенню впливу церебролізину на функціональне одужання у хворих з важкою інвалідністю після ЧМТ присвячене ретроспективне дворічне когортне дослідження, результати котрого опубліковані у 2017 році іранськими вченими Н. Khalili, А. Niakan, F. Ghaffarpassand [173]. У проведеному дослідженні (129 пацієнтів), введення церебролізину було пов'язане з істотно нижчим рівнем смертності та більш високим функціональним відновленням після 6 місяців терапії ($p = 0,024$). Проте, необхідно відзначити, що введення церебролізину асоціювалось з статистично значимим збільшенням частоти нападів психоемоційного збудження, що було істотним недоліком призначеної терапії ($p = 0,042$) [173].

Проводяться вивчення нейропротекторної активності пірацетама, проте на даний час переконливі докази його ефективності відсутні [407, 408].

Метааналіз досліджень, присвячений нейропротекції при ЧМТ, а саме ефективності церебролізину, цитиколіну та пірацетама, проведений у 2018 році І. El Sayed, А. Zaki, А.М. Fayed включив в себе всі електронні і друковані статті та тези з результатами досліджень, незалежно від дати і місця проведення [44]. Доведено позитивний вплив на когнітивну функцію (скоріше умовно позитивний, бо кількість хворих недостатня) та відсутність будь-якого впливу

на прогноз хворих з ЧМТ церебраліну, відсутність переконливого впливу на когнітивну функцію та прогноз у цитиколіну та пірацетаму. Автори вбачають перспективу у продовженні досліджень для отримання більш переконливих результатів застосування нейропротекторів при ЧМТ [44].

Отже, аналізуючи проведені клінічні та експериментальні дослідження, можна стверджувати, що ексайтотоксичність є однією з ключових патогенетичних ланок загибелі нейронів при ЧМТ. На сучасному етапі, не дивлячись на загальне усвідомлення крайньої необхідності створення препарату, котрий міг би вплинути на розвиток вторинного пошкодження нейронів, нейропротекція продовжує залишатись "чорною дірою" нейрофізіології. Існуючі препарати, котрі потенційно могли б впливати на розвиток глутаматної ексайтотоксичності, виявились або недостатньо ефективними, або навіть загрозливими з огляду на розвиток виражених побічних реакцій, або мають обмежене використання, що не дає змогу бути рекомендованими до загального клінічного використання [349, 409, 410]. Пошук нових ефективних і безпечних засобів впливу на глутаматну ексайтотоксичність залишається вкрай важливим на сучасному етапі, оскільки дасть можливість впливати на ключові механізми вторинного пошкодження нейронів при ЧМТ, що може суттєво вплинути на покращення прогнозу у цієї вкрай важкої категорії пацієнтів.

1.5 Доцільність доклінічної оцінки модулятора активності NMDA-рецепторів Адемолу за новим призначенням в якості церебропротекторного засобу при черепно-мозковій травмі

Пошук та впровадження нейропротекторної терапії є патогенетично обґрунтованим за умов ЧМТ. Первинна нейропротекція направлена на пригнічення швидких реакцій глутаматкальцієвого каскаду. Причому, найбільші сподівання у цьому напрямку покладені на блокатори NMDA-рецепторів. Вторинна нейропротекція впливає на відстрочену загибель нейронів: оксидативний стрес, локальне вивільнення прозапальних цитокінів,

розвиток судинної дисфункції, порушення нейротрофічних процесів, тощо. При цьому, необхідно відзначити, що ефективність впливу на відстрочені механізми нейрональної загибелі безпосередньо залежать від ступеню первинного гальмування глутаматної ексайтотоксичності, котра і запускає лавиноподібним чином всі процеси вторинного пошкодження.

Адамантани володіють широким спектром фармакологічних властивостей. Зокрема, наявність протівірусної, антигіпоксичної, протиішемічної, анксиолітичної, адаптогенної, нейро-, акто- та термопротекторної дії [21, 411, 412, 413, 414]. Перспективною для подальшого вивчення є сполука, яка володіє нейропротекторними властивостями, синтезована під керівництвом акад. М.О. Лозинського в Інституті органічної хімії НАН України, похідна адамантану 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (лабораторний шифр ЮК-1, умовна назва Адемол), 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид є новою оригінальною субстанцією, вперше синтезованою українськими вченими.

Структура молекули поєднує 2 фармакофори – адамантанову та аміноалкілно-спиртову і гіпотетично здатна проявляти фармакологічні властивості сполук обох класів. Стосовно фармакологічних властивостей сполуки ЮК-1 (Адемолу) на сьогоднішній день встановлено, що їй притаманні елементи структурної схожості з пропранололом, антихолінестеразні, гангліо- та β -адреноблокуючі властивості, утеротонічний, анагетичний, транквілізуючий антиамнестичний та антигіпоксичний ефекти [18, 19, 30, 414, 415].

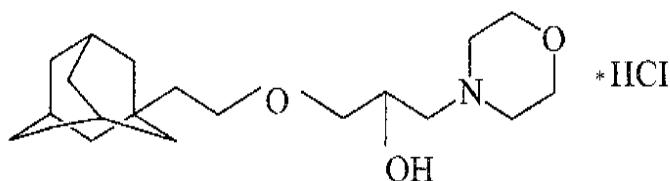


Рис. 1.1. 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид –Адемол
(умовна робоча назва сполука ЮК-1)

Стимулом для поглибленого дослідження церебропротекторної дії Адемолу стали дані про те, що він є низькоафінним неконкурентним блокатором поліамінового сайту NMDA-рецепторів іонофорного комплексу пірамідних нейронів гіпокампу з дуже швидкою кінетикою деблокади NMDA-рецепторів [22].

Адемол, завдяки його здатності ініціювати перехід активованого NMDA-каналу в блоковану форму й назад, забезпечує зростання середньої тривалості потоків імпульсів, що дозволяє розглядати Адемол скоріше як потенціатор, ніж блокатор каналних структур із швидкою блокадою/деблокадою NMDA-рецепторів. Такий модулюючий вплив Адемолу на NMDA-рецептори може забезпечувати нормальне функціонування неушкодженої нервової тканини, селективно знижуючи лише надлишкову активацію NMDA-рецепторів [24, 28].

Нейропротекторні ефекти Адемолу, певною мірою, пов'язані з наявністю стимулюючого впливу на кровопостачання головного мозку: продемонстровано наявність у Адемолу стимулюючої дії на мозковий кровоплин в басейні внутрішньої сонної артерії при гострому порушенні мозкового кровообігу за ішемічним типом [24], подібний позитивний вплив на церебральну гемодинаміку отримано і на моделях геморагічного інсульту [415]. Слід зауважити, що інтегративними показниками впливу нейропротектора на ішемізований головний мозок є, поряд із зменшенням летальності, швидка ліквідація неврологічного дефіциту та відновлення когнітивно-мнестичних функцій, що і мало місце у проведених дослідженнях Адемолу [26, 29, 415].

Ефективність Адемолу доведена на цілій низці патофізіологічних каскадів в умовах гострої церебральної ішемії. Зокрема, дослідження продемонстрували, що введення Адемолу щурам з гострим порушенням мозкового кровообігу зменшувало деструктивні зміни в нейронах головного мозку і сприяло відновленню порушених показників кислотно-лужної рівноваги [20, 25, 27]. Адемол (2 мг/кг) покращував кровообіг в каротидному басейні на рівні вінпоцетину (5 мг/кг) не тільки в умовах наркозу, а й при гострому порушенні мозкового кровообігу [24]. Експериментальна курсова

терапія щурів Адемолем (2 мг/кг) ефективніше за цитиколін (250 мг/кг) зменшувала виразність неврологічних порушень, що супроводжувалось покращенням мнестичних функцій у тварин із гострим порушенням мозкового кровообігу на 21-шу добу [27]. Лікувальне введення ЮК-1 зменшувало нейродеструктивні процеси в ішемізованому головного мозку, із вірогідним зниженням на 4-ту добу ішемії активності нейронспецифічної енолази в крові відносно групи контролю та тварин, котрі отримували мексидол, у середньому відповідно в 2,2 та 1,7 рази ($p < 0,05$). Введення Адемолу за умов гострої церебральної ішемії корелювало з відновленням енергопостачання головного мозку (збільшення вмісту АТФ, малату та пірувату), зменшенням вмісту лактату та усуненням декомпенсованого метаболічного ацидозу, коректуючим впливом на активність синтази монооксиду азоту (NOS), зниженням інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів і окисної модифікації білків, активацією ферментативної ланки антиоксидантного захисту мозку (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази); статистично значимо переважаючи аналогічні показники при застосуванні цитиколіну та мексидолу ($p < 0,05$).

У проведених дослідженнях, на експериментальних моделях мозкових інсультів, Адемол чинив модулюючий вплив на експресію в головному мозку генів раннього реагування *c-fos* та *bcl-2*, що гальмувало експансію ділянки тотальної ішемії, "перемикаючи" некротичний тип смерті нейронів на більш сприятливий апоптичний, що дозволяло зберегти цитоархітектоніку тканини [19, 24]. У постреперфузійному періоді гострої церебральної ішемії Адемол вірогідно краще за цитиколін (у середньому на 14,5 %, $p < 0,05$) зменшував інтенсивність фрагментації ДНК (маркеру нейроапоптозу) в ядрах кортикальних нейронів, що свідчить про його антиапоптотичні властивості.

Доказова база стосовно церебро- і кардіопротекторних властивостей Адемолу дозволила здійснити впровадження препарату у виробництво ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» як лікарського засобу з церебро- та кардіопротекторними властивостями (наказ по ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» № 1/2164 від 23.09.2013 р.).

Отже, нейропротекторна дія Адемолу пов'язана з модулюючим впливом на активність NMDA-рецепторів, усуненням енергодефіциту, метаболічного ацидозу, оксидативного uszkodження нейронів, нормалізуючим впливом на обмін монооксиду азоту, нормалізацією мозкового кровоплину, збереженням цитоархітектоніки кори мозку, у тому числі, за рахунок зменшення апоптозу [21, 23]. На основі проведених досліджень, можна стверджувати, що препарат володіє комплексним впливом, проявляючи властивості як первинного, так і вторинного церебропротектора, зі значними перевагами, порівняно з іншими, представленими на сучасному фармацевтичному ринку, нейропротекторами [24, 30, 31]. Гостра ексайтотоксична нейродегенерація, зумовлена надмірною активацією NMDA-рецепторів та патологічними реакціями глутамат-кальцієвого uszkodження, розвивається не лише при мозкових інсультах, доведеним на сьогоднішній день є її визначальна роль у ініціації вторинних пошкоджень при травматичних враженнях головного мозку [24].

Необхідно відзначити, що найважливішими завданнями лікування постраждалих з тяжкою ЧМТ є попередження і своєчасна корекція факторів, що ініціюють і підтримують процеси вторинного uszkodження, блокада біохімічних каскадів, що призводять до загибелі клітин, а також стимуляція і підтримка процесів нейрорегенерації і нейрогенезу. Попереджаючи і обмежуючи дію вторинних ішемічних факторів uszkodження головного мозку, можна істотно поліпшити результат у постраждалих з ЧМТ.

Оскільки при ЧМТ саме глутаматна ексайтотоксичність є одним з тригерних факторів, що впливають на розвиток лактат-ацидозу, ангіоспазму та ендотеліальної дисфункції, утворення реактивних вільних радикалів кисню, активацію перекисного окиснення ліпідів, набряку мозку, індукуючи процеси апоптозу і некрозу клітин, з урахуванням позитивного модулюючого впливу Адемолу на NMDA-рецептори є доцільним та патогенетично обґрунтованим оцінити наявність і вираженість його нейроцитопротекторних властивостей при гострому мозковому травматизмі.

Розглядаючи глутаматні рецептори, як терапевтичні мішені для

нейропротекторного впливу, слід відзначити, що більшість антагоністів NMDA-рецепторів не продемонстрували ефективності у клінічних випробовуваннях на людях, внаслідок не лише недостатньої ефективності, але й, головним чином, розвитку побічних ефектів. Основним поясненням парадоксальних ефектів впливу на NMDA-рецептори, є їх роль як в нормальному функціонуванні клітини, так і в механізмах ексайтотоксичності. При повній блокаді всіх нейрональних NMDA-рецепторів за допомогою антагоністів, відбувається не лише гальмування механізму ексайтотоксичності, але і блокада необхідної синаптичної пластичності та шляхів виживання клітин, що активуються NMDA-рецепторами. NMDA-рецептори відіграють значну роль і у виживанні клітин та в підтримці нейронального гомеостазу, водночас виконуючи основну роль і в ексайтотоксичній загибелі нейронів. Існує багато дискусійних теорій щодо дихотомічної ролі NMDA-рецепторів і, беззаперечно ця проблема потребує подальшого дослідження. Проте, Адемол – низькоафінний неконкурентний блокатор NMDA-рецепторів, котрий завдяки здатності ініціювати перехід активованого NMDA-каналу в блоковану/деблоковану форми, володіє скоріше, модулюючим, аніж блокуючим впливом на NMDA-рецептори та може забезпечувати нормальне функціонування неушкодженої нервової тканини, селективно знижуючи лише надлишкову активацію NMDA-рецепторів.

Потенційна здатність Адемолу активно впливати на основні механізми вторинного пошкодження нейронів за умов ЧМТ, викликає гостру необхідність невідкладного дослідження препарату у даному напрямку, оскільки впровадження ефективного нейропротектора в практику ведення цієї, критично важкої категорії пацієнтів здатне суттєво вплинути не лише на травматичну та загальну смертність, але і суттєво зменшити інвалідизацію та покращити якість життя після мозкових травм, кількість яких протягом останніх років, особливо після початку війни, стрімко зростає.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Експериментальні тварини. Комплексне графічне зображення дизайну

2.1.1 Характеристики тест-системи

Тест-система

- Вид – щури
- Порода – нелінійні
- Стать – самці
- Вік– 10-12 тижнів.
- Маса тіла – 160-190 г
- Загальна кількість –260 тварин (додатково 20 резервних)
- Джерело – віварій ВНМУ імені М.І. Пирогова
- Період акліматизації – 10 діб.

2.1.2 Обґрунтування вибору тест-системи

Оцінку церебропротекторних властивостей Адемолу та референсних препаратів проведено на 260 щурах-самцях лінії Вістар масою 160-190 г. Щури – загальноприйнятий вид лабораторних тварин для доклінічних досліджень лікарських засобів, нових фармацевтичних композицій та біологічно-активних речовин.

2.1.3 Умови утримання тварин

Усі тварини знаходились у віварії ВНМУ імені М.І. Пирогова на стандартному водно-харчовому раціоні при природному освітленні та вільному доступі до води та корму. Під час роботи з лабораторними тваринами дотримані методичні рекомендації Державного фармакологічного центру Міністерства охорони здоров'я України і вимоги біоетики згідно до Національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (2001), що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист

хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). Дослідження проводили в лабораторії кафедри фармакології по доклінічному вивченню фармакологічних речовин (свідоцтво МОЗ України про переатестацію № 023/13 від 05.03.2013 р.), у клініко-діагностичній лабораторії кафедри біохімії (свідоцтво МОЗ України про переатестацію №002/10 від 11 січня 2010 р.) та Науково-дослідній лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку ВНМУ ім. М.І. Пирогова (свідоцтво МОЗ України про переатестацію №003/10 від 11 січня 2010 р.). Дизайн пошуку умовно-ефективної церебропротективної дози Адемолу та встановлення нових патогенетичних механізмів його протиішемічної дії при ЧМТ представлено на рис. 2.1. Будь-які травматичні маніпуляції, як і евтаназію тварин шляхом декапітації виконували в умовах пропофолового («Fresenius Kabi», Австрія) наркозу (60 мг/кг внутрішньоочеревинно (в/о), або внутрішньовенно (в/в)).

- Кількість щурів клітці – 5 особин.
- Розміри клітки для щурів– 420 x 260 x 150 мм.
- Маркування клітки – номер дослідження, вид, номери тварин, дози.
- Клітки з тваринами різних груп – розміщуються окремо.
- Матеріал клітки – пластмасовий ящик (щери).
- Основний раціон – фуражнезерно, хліб, коренеплоди буряк, морква), трава, повнораціонний гранульований комбікорм.
- Джерело води – охолоджена кип'ячена вода в скляних поїлках
- Підстилка – тирса листяних дерев
- Температура повітря – 20-24 °С
- Вологість повітря – 50-55 %
- Освітлення–12 год на добу.

2.1.4 Акліматизація і рандомізація

Після отримання, тварини зважувались, маркувались 1,0 % розчином діамантового зеленого і розсаджувались по клітках. Акліматизація тривала 10

діб. У разі загибелі більше 2 тварин за період акліматизації партія визнавалась непридатною і підлягала поверненню до віварію. За день до початку дослідження всі тварини оглядались кваліфікованим ветеринаром. В дослідження включались тільки здорові тварини. Рандомізація в групі відбувалась за списком або методом мінімізації відмінностей за масою. Тварин розподілені на групи, по 20 особин кожна. Загальна кількість щурів, їх розподіл за дослідними групами при проведенні скринінгових досліджень умовно-ефективної дози Адемолу та при оцінці його терапевтичної ефективності, а також на тлі введення референтних препаратів наведено в таблиці 2.1

Таблиця 2.1 - Розподіл щурів за дослідними групами при проведенні скринінгових умовно-ефективних церебропротекторних доз препаратів при ЧМТ

| Експериментальні групи | Кількість тварин у кожній групі |
|---|--|
| Псевдооперовані тварини (ЧМТ+ 0,9% NaCl, 2 мл/кг в/в) | 20 |
| Контрольна патологія (ЧМТ + 0,9% NaCl, 1 мл/кг в/в) | 20 |
| Контрольна патологія (ЧМТ + 0,9% NaCl, 2 мл/кг в/в) | 20 |
| Контрольна патологія (ЧМТ + 0,9% NaCl, 4 мл/кг в/в) | 20 |
| ЧМТ + Адемол (1 мг/кг в/в) | 20 |
| ЧМТ + Адемол (2 мг/кг в/в) | 20 |
| ЧМТ + Адемол (4 мг/кг в/в) | 20 |
| ЧМТ+амантадину сульфат (2,5 мг/кг в/в) | 20 |
| ЧМТ+амантадину сульфат (5 мг/кг в/в) | 20 |
| ЧМТ+амантадину сульфат (10 мг/кг в/в) | 20 |
| ЧМТ + магнію сульфат(200 мг/кг в/в) | 20 |
| ЧМТ + магнію сульфат(250 мг/кг в/в) | 20 |
| ЧМТ + магнію сульфат(300 мг/кг в/в) | 20 |
| Загальна кількість щурів | 260 |

Примітка. ЧМТ – черепно-мозкова травма; в/в - внутрішньовенно.



Рис. 2.1. Дизайн пошуку умовно-ефективної церебропротективної дози Адемолу та встановлення нових патогенетичних механізмів його протишемічної дії при ЧМТ.

2.2 Опис та критерії оцінки власно створеної моделі черепно-мозкової травми у щурів, викликані дією потоку вуглекислого газу під тиском

Скринінгові дослідження умовно-ефективної церебропротективної дози Адемолу та поглиблену оцінку його захисних властивостей на головний мозок при курсовому введенні проводили на моделі ЧМТ у щурів.

Експериментальну ЧМТ, викликану дією потоку вуглекислого газу під тиском створювали за власно створеною моделлю із використанням газобалонного пневматичного пістолету марки «Байкал МР-654К» (РФ, Іжевськ, № сертифікату РОСС RU МЖ03.В02518) з використанням балонів вуглекислого газу (маса зрідженого CO_2 – 12 г) під тиском (Crosman, США, № серії 456739). Постійність тиску CO_2 на рівні дульного зрізу контролювали, шляхом попередньої реєстрації швидкості польоту сферичної сталевий кульки (Кросман, США, № серії 03675482), калібром 4,5 мм масою 0,3 г на відстані 1 см від внутрішнього дульного отвору через індукційний надульний хронометр X 741 (Україна). При цьому було встановлено, що при використанні балонів вуглекислого газу (t повітря = $19\text{ }^\circ\text{C}$, $P_{\text{атм}} = 720\text{-}755$ мм. рт.ст.) однакової серії № 03675482, при здійсненні наступних 10 пострілів з інтервалом 5 хв. після перших 5 пробних, швидкість польоту кульки була сталою, без достовірних коливань і складала 110-105 м/с. При таких швидкісних характеристиках, на рівні дульного зрізу тиск вуглекислого газу був однаково незмінним і дорівнював 7,4-7,5 Дж, що дозволяє відтворювати контузію ока в однакових умовах у всіх серіях при використанні балону вуглекислого газу, не більш ніж як у 10 експериментальних пострілах. Для уніфікованого підходу при створенні ЧМТ різного ступеня тяжкості, відстань дії уражуючого агента (вуглекислий газ під тиском) послідовно змінювали від 0 до 1 см (постріл впритул, з відстані 0,5 см та 1 см).

Щурам в умовах пропофолового наркозу, після катетеризації стегнової вени та налагодження можливості здійснювати інфузію через інфузомат, здійснювали правобічну кістково-пластичну трепанацію черепа в проекції

середньої мозкової артерії, з діаметром отвору 5 мм². Після фіксації щура в положенні на животі вниз головою здійснювали постріл з фіксованої відстані, кістковий фрагмент на окісті разом із апоневрозом, повертали на місце і рану зашивали пошарово.

З метою ґрунтовної оцінки величини церебропротекторної дії Адемолу та встановлення можливих механізмів цього ефекту, у подальшому застосовували лише ЧМТ тяжкого ступеня, що забезпечувалось при умовах, коли отвір затворної рами пневматичного пістолету був притулений впритул до центру трепанаційного отвору (рис. 2.2).



Рис. 2.2. Фото модельованої ЧМТ у щурів.

Запропонована стандартизована модель ЧМТ із використанням специфічних чутливих маркерів, які віддзеркалюють морфологічну цілісність головного мозку, дозволяє проводити цілеспрямований скринінг складових церебропротекторної активності, як серед вже відомих лікарських засобів, так і серед нових біологічно активних сполук.

Це, у свою чергу, сприяє запровадженню їх у практичну неврологію та інтенсивну терапію для лікування травматичних уражень головного мозку.

2.3 Досліджуваний препарат (промисловий зразок ампульного розчину Адемолу) та референт-препарати (амантадину та магнію сульфат). Обґрунтування вибору препарату порівняння

Досліджуваний препарат № 1 Адемол («Адемол-Дарниця», Дарниця, Україна, 10 ампул по 5 мл концентрацією 1 мг/мл

Назва. Адемол-Дарниця

Фармакотерапевтична група. Засоби, що стимулюють пологову діяльність

Номер серії. 020414

Дата виготовлення. 01.04.2014 р.

Склад. Діюча речовина: 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид; 1 мл розчину містить 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид 1мг

Допоміжні речовини: вода для ін'єкцій. Форма випуску. Розчин для ін'єкцій.

Умови зберігання. Зберігати в оригінальній упаковці при температурі не вище 25 °С. Не охолоджувати.

Зберігати в недоступному для дітей місці. Термін придатності – 3 роки.

Термін придатності: травень 2019 р.

Повна характеристика препарату наведена в Сертифікатіякості № 00454.

Субстанція адемолу створена завідуючим відділом трансферу технологій, інновацій та інтелектуальної власності Інституту органічної хімії НАНУ, к.фарм.н., Ю.В. Коротким та академіком М.О. Лозинським.

Референт препарат № 1. Амантадину сульфат («ПК-Мерц», Мерц Фарма ГмбХ і Ко. КГаА/ Merz Pharma GmbH & Co. KGaA., Німеччина, 1 флакон 500 мл концентрацією 200 мг/500 мл).

Назва. ПК-Мерц

Фармакотерапевтична група. Протипаркінсонічні препарати. Код N04B B01.

Номер серії. 406191

Дата виготовлення. 11.06.2014 р.

Склад. 500 мл розчину містить діючої речовини амантадину сульфату 200 мг та в якості допоміжної речовини хлорид натрію 4,725 г. Форма випуску. Розчин для інфузій.

Умови зберігання. Зберігати в оригінальній упаковці при температурі не вище 25 °С. Не охолоджувати.

Зберігати в недоступному для дітей місці. Термін придатності – 5 років.

Термін придатності: травень 2019 р.

Повна характеристика препарату наведена в Сертифікаті якості № 111353.

Референт препарат № 2 Магнію сульфат-Дарниця («Магнія сульфат-Дарниця», Дарниця, Україна, 10 ампул по 5 мл концентрацією 250 мг/мл)

Назва. Магнію сульфат-Дарниця

Фармакотерапевтична група. Додаткові розчини для внутрішньовенного введення. Магнію сульфат. Код В05Х А05

Номер серії. 010115

Дата виготовлення. 01.01.2015 р.

Склад. Діюча речовина: Magnesium sulfate; 1 мл розчину містить магнію сульфату гептагідрату 200 мг або 250 мг у перерахуванні на 100% суху речовину. Допоміжні речовини: вода для ін'єкцій. Форма випуску. Розчин для ін'єкцій.

Умови зберігання. Зберігати в оригінальній упаковці при температурі не вище 25 °С. Не охолоджувати.

Зберігати в недоступному для дітей місці. Термін придатності – 3 роки.

Термін придатності: лютий 2018 р.

Повна характеристика препарату наведена в Сертифікаті якості № 111353.

Група контрольної патології отримувала парантерально 0,9% розчин NaCl в еквівалентному об'ємі (2 мл/кг) до досліджуваних препаратів. Псевдооперованих тварин піддавали всім втручанням (наркоз, розріз шкіри,

кістково-пластична трепанація черепа) за виключенням маніпуляцій, які безпосередньо могли б призвести до травматичного ураження мозку, що нівелювало вплив травматичних умов експерименту. Їм також вводили еквівалентну кількість 0,9% розчину NaCl.

Референтний препарат № 3. 0,9% розчин NaCl, фізіологічний розчин натрію хлориду («Натрію хлорид-Дарниця», Дарниця, Україна).

Назва. Натрію хлорид-Дарниця.

Фармакотерапевтична група. Плазмозамінні та дезінтоксикаційні розчини

Код В05ХА03.

Номер серії: 241016

Дата виготовлення: 24.10.2016р.

Склад. Діючі речовини: 1 мл розчину містить натрію хлориду 9 мг; допоміжна речовина: вода для ін'єкцій.

Форма випуску. Розчин для ін'єкцій 0.9% по 5 мл в ампулах № 10.

Умови зберігання. Зберігати при кімнатній температурі не вище 25 °С у місці, недоступному для дітей.

Термін придатності. 11.2021 р.

Повна характеристика препарату наведена в Сертифікаті якості № 24 від 31.10.2016 р.

2.4 Характеристика доклінічних протоколів введення Адемолу та референтів

Лікування досліджуваними препаратами відбувалось на базі Навчально-науково-дослідної лабораторії з доклінічної оцінки лікарських засобів та біологічно-активних речовин «Фармадар» (Зав. лаб. - д. мед. н., проф. Ходаківський О.А.), шляхом повільної внутрішньовенної інфузії інфузоматом, яка тривала 2 год з інтервалом 2 р/д (через кожні 12 год) впродовж 8-ми діб (кінець гострого періоду ЧМТ). Зважаючи на те, що переважна більшість хворих поступає до спеціалізованого лікувального закладу через 40-90 хв. із моменту розвитку травми та враховуючи терміни і послідовність розвитку

ішемічного каскаду, лікування розпочинали через 1 год після моделювання патологічного стану [87; 88]. Для здійснення інфузійної терапії, перед моделюванням ЧМТ, ми проводили катетеризацію стегнової вени. Катетер фіксувався підшкірно шовковими швами до внутрішньої поверхні стегна. Після кожної інфузії, для профілактики тромбозу катетер на всю довжину заповнювався титрованим розчином гепарину (1:20). Будь-які травматичні маніпуляції (постановка катетера, препарування судин, накладання та затягування лігатур), евтаназію тварин шляхом декапітації виконували в умовах пропофолового наркозу (60 мг/кг в/о) [78] («Fresenius Kabi», Австрія). Згідно даних літератури та інструкції до пропофолу, він володіє ультра короткочасною наркозною дією (в межах 30-40 хв. при внутрішньоочеревинному введенні), без негативного впливу на вітальні функції у межах терапевтичних доз. Терапевтичну дію Адемолу за модельної ЧМТ оцінювали при його застосуванні окремими дозами 1, 2 та 4 мг/кг. Відправною точкою для пошуку умовно-ефективної дози стала доза, яка виявилась при ГПМК у щурів [81].

У якості референс-препаратів використовували блокатор поліамінового сайту NMDA-рецепторів розчин амантадину сульфат («ПК-мерц», Мерц Фарма, Німеччина), в дозах для пошуку умовно-ефективної дози 2,5; 5 та 10 мг/кг в/в та іонотропний блокатор NMDA-рецепторів розчин магнію сульфата («Магнія сульфат-Дарниця» Дарниця, Україна), в дозах для пошуку умовно-ефективної дози 200; 250 та 300 мг/кг в/в. Відправною точкою для дозування референс-препаратів були рекомендовані дози досліджуваних ЛЗ з літератури відповідно для магнію сульфата: 250 мг/кг та амантадину сульфат: 10 мг/кг [69] за відповідними до дизайну експериментальними схемами. Всі досліджувані групи отримували еквівалентну по об'єму кількість досліджуваних препаратів.

Псевдооперовані тварини отримували 0,9% розчин NaCl із розрахунку до найбільш ефективної по об'єму дози Адемолу та 0,9% розчин NaCl 0,9% розчин NaCl – 2 мл/кг в/в.

2.5 Характеристика методик дослідження

Первинними критеріями церебропротекторної ефективності при терапії Адемолем та референс-препаратами в умовах модельної ЧМТ обрано термін загибелі щурів (у годинах) їх летальність (у %) та динаміка неврологічного статусу [81].

Неврологічний дефіцит у щурів із ЧМТ важкого ступеня тяжкості (так само як і інші функціональні та лабораторні показники) на першу добу та в кінці гострого періоду через 12 год після останнього введення препаратів (на 8-му добу) оцінювали за шкалою stroke-index С.Р. McGrow [324]. Тяжкість стану визначали за сумою відповідних балів: до 3 балів – легкий ступінь, від 3 до 7 балів – середній ступінь, вище 7 балів – тяжкий ступінь. Відмічали тремор, парези, паралічі кінцівок, птоз, манежні рухи, бічне положення, здатність щурів утримуватися на стрижні діаметром 15 см, що обертався зі швидкістю 3 об/хв. Тварин тестували на 8-му добу, визначали суму балів (однобічний напівптоз – 0,5 бала; однобічний птоз – 1 бал; тремор – 0,5 бала; манежні рухи – 0,5 бала; парези кінцівок (за кожну кінцівку) – 1 бал; параліч кінцівок (за кожну кінцівку) – 2 бали; бокове положення – 3 бали; нездатність утриматись на обертовому стрижні протягом 4 хв. – 3 бали).

Здатність тварин до навчання та запам'ятовування аверсивного стимулу досліджували в аналогічний період (8-ма доба) ЧМТ в тесті умовної реакції пасивного уникання (УРПУ) [8]. Методика заснована на вродженому інстинкті щурів до обмеженого затемненого простору. Навчання щурів проводили в двокамерній установці, що складається з двох відсіків – світлого та темного. Тварину вміщували до світлого відсіку, фіксували латентний час входу в темний відсік, де щур отримував подразнення електричним струмом та вибігав у світлий відсік. Збереження УРПУ перевіряли через добу за зміною латентного часу входу щура до темного відсіку. Також відмічали кількість тварин, які намагались увійти до темної камери, але не завершили спробу.

Для подальшого визначення ефективності досліджуваних препаратів при ЧМТ використовували показник об'ємної швидкості мозкового кровотоку

(ОШМК), який вимірювали за допомогою флоуметра Transonik Animal Research Floowmeters T-106 Series (USA). Периваскулярний датчик Transonik Flowprobe # 1RB1854, накладений на внутрішню сонну артерію, реєстрував швидкість мозкового кровотоку в мл/хв [53]. Показник ОШМК починали реєструвати через 5 хв після початку інфузії Адемолу упродовж усього періоду введення (2 год) з інтервалом кожні 30 хв.

Артеріальний тиск (АТ) вимірювали в стегновій артерії за допомогою датчика Pressure Transducer. Динаміку центрального венозного тиску (ЦВТ), реєстрували шляхом приєднання до канюлі катетеру встановленого на контрлатеральній до інфузії стегновій вені, кінець якого знаходився у просвіті нижньої порожнистої вени поліхлорвенілової прозорої трубки довжиною 5 см та внутрішнім діаметром 2 мм, яка заповнювалась 0,9 % розчином NaCl. Показник ЦВТ визначали у мм водного стовпчика за висотою рівня рідини в системі. Нульовим рівнем служила *lig. inguinale* (пупартова зв'язка).

Ефективність церебропротективної терапії визначали за динамікою (у %) ОШМК, ЦВТ, та АТ відносно початкового рівня (фоновий показник), прийнятого за 100 %, а також у порівнянні з контрольною групою у відповідні терміни спостереження [55].

Серед лабораторних досліджень, які використовувалися для визначення ефективності досліджуваних ЛЗ використовували динаміку змін: кортизолу, фактор некрозу пухлин альфа (TNF- α), активність нейронспецифічної енолази, вміст білка S100. Дослідження проводились на базі Науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії ВНМУ ім. М.І.Пирогова кафедри біологічної та загальної хімії (зав.лаб. - к.мед.н., доц. Штатко О.І, атестат акредитації вимірювальної лабораторії серія КДЛ № 002087).

Для визначення динаміки кортизолу, по закінченні терапії при ЧМТ (на 8-му добу) у щурів, шляхом пункції сагітального синуса, брали проби крові (0,2-0,4 мл). Рівень кортизолу вимірювали методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням набору CORTISOL KIT (Німеччина) на приладі фірми "Hipson" (Чехія). Фактор некрозу пухлин альфа

(TNF- α) у великих півкулях головного мозку щурів досліджували методом імуноферментного аналізу з використанням набору ВАТ «Цитокин» (Російська Федерація).

За допомогою нейромаркерів (нейрон-специфічна енолаза (NSE) та білок S100), визначаючи ступінь деструктивних змін у мозку при холостих пострілах із різної відстані запропоновано класифікацію ЧМТ різної важкості: тяжкого, середнього та легкого ступеня, що деталізовано у частині дисертації, у якій традиційно висвітлюються результати власних досліджень (див. Розділ 3).

Активність NSE та вміст білка S100 у сироватці крові щурів вимірювали на 8-му добу ЧМТ методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням наборів NSE ELISA KIT (DAI, США) та S100 ELISA KIT (Fujirebio Diagnostics Inc., Швеція) на приладі фірми “Hipson” (Чехія) [80]. Вивільнення ферменту та білку з нейронів у цереброспінальний ліквор і кров є маркерами ушкодження нервової тканини. Активність NSE та рівень білка S 100 у крові пацієнтів із ЧМТ віддзеркалює площу некротичних змін у мозку [220].

Зміни метаболічних показників в ішемізованих темпоральних частках головного мозку щурів також оцінювали у вищевказаний період. У декапітованих тварин через 60 хв після останньої ін'єкції досліджуваних речовин вилучали головний мозок, перфузували його холодним 1,15% розчином калію хлориду і гомогенізували при 3000 об/хв. (тефлон-скло) у середовищі 1,15% калію хлориду (співвідношення 1:3). Гомогенати центрифугували упродовж 30 хв. при 600 g, відбирали аліквоти постядерного супернатанту в мікропробірки Eppendorf і до проведення досліджень зберігали при температурі 20°C.

Біохімічні процеси в травматично-пошкодженому ГМ досліджували на 8-му добу ЧМТ. Визначали вміст загального білка мікробіуретовим методом з реактивом Бенедикта [102], малонового діальдегіду (МДА) - за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [64], карбонільних груп білків (КГ) - за реакцією з 2,4-динітрофенілгідрaziном [234]. Вміст пірувату та лактату-калориметричним

методом Асатиани В.С.

Вміст аденілових нуклеотидів досліджували у безбілковому трихлороцтовому екстракті тканин головного мозку 1:10 (10% розчин трихлороцтової кислоти) хроматографічним методом [96]. Енергетичний заряд розраховували за відомою формулою:

$$A_{\text{adenine}} = \frac{2A_{\text{ATP}} + A_{\text{ADP}}}{2(A_{\text{ATP}} + A_{\text{ADP}} + A_{\text{AMP}})}$$

Активність супероксиддисмутази (СОД) оцінювали за відсотком гальмування окиснення кверцетину [423], а каталази - за швидкістю деградації гідроген пероксиду [350]. Активність глутатіонпероксидази (ГПО) визначали спектрофотометричним методом за накопиченням окисненого глутатіону [260].

Рівень L-аргініну визначали за реакцією Сакагучі, яка включає утворення забарвленого комплексу аргініну з альфа-нафтолом в присутності гіпоброміду в лужному середовищі. Сумарну активність NO-синтаз (КФ 1.14.13.39) встановлювали за кількістю утвореного нітрит-аніону (NO₂⁻) після інкубації постядерного супернатанту гомогенату мозку протягом 60 хв. у середовищі, 1 мл якого містив 50 мМ КН₂РО₄-NaOH-буфер (рН 7,0), 1 мМ MgCl₂, 2 мМ СаCl₂, 1 мМ НАДФН, 2,2 мМ L-аргініну [111].

Рівень нейротрофічного фактору (BDNF) імуноферментними методами визначали за стандартними наборами «BDNF Quantikine ELISA» (R&D Systems, США) на аналізаторі STAT FAX 303/PLUS.

Оцінку рівня фрагментації ДНК в ядрах нейронів правих лобових часток кори головного мозку як маркера нейроапоптозу проводили в умовах модельної ЧМТ у щурів на базі науково-дослідної лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку (виконавець Черешнюк І.Л.). Дослідження виконували методом протокової цитометрії [234]. На 8 добу ЧМТ вилучали уражені частки кори головного мозку. Суспензії ядер отримували при додаванні до тканини спеціального розчину для дослідження ядерної ДНК CyStain DNA фірми Partec (Німеччина) відповідно до протоколу-інструкції виробника. Цей розчин забезпечує одночасну екстракцію ядер та мітку ядер ДНК

діамідинофеніліндолом, котрий є його складовою. Для приготування ядерних суспензій використовували спеціальні одноразові фільтри CellTrics 50 мкм (Partec, Німеччина). Ядерні суспензії біоптатів кори лобних часток головного мозку щурів готували негайно після забору матеріалу та промивки холодним (+4 – +8°C) фосфатносолевим буфером рН 7,4 (Sigma). Визначали на багатофункціональному науково-дослідному протоковому цитометрі «Partec PAS» фірми Partec, Німеччина. Для збудження флуоресценції діамідинофеніліндолом використовували ультрафіолетову лампу. З кожного зразка ядерної суспензії здійснювався аналіз 10 тис. подій. Протоковий аналіз фрагментації ДНК виконували засобами програмного забезпечення FloMax (фірма Partec, Німеччина) шляхом виділення Sub-G1 ділянки на ДНК-гістограмах.

Дослідження морфологічних змін в структурах головного мозку щурів на тлі курсової терапії ЧМТ досліджуваними розчинами проводилось на базі ВОПАБ Вінницької обласної Ради (директор Гресько М.С.), шляхом вилучення матеріалу для дослідження (головного мозку щура) на 8 – му добу експерименту. Для гістологічного дослідження головний мозок фіксували 10% нейтральним формаліном, зневоднювали у спиртах концентрації, що зростали та занурювали у парафін. Зрізи, отримані на санному мікротомі, укладали на предметні скельця, фарбували гематоксиліном та еозином, толуїдиновим синім. Мікроскопію гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа OLIMPUS BX 41 (МОЗ України Свідоцтво про державну реєстрацію № 8120/2008, код 9011800000) із застосуванням збільшень у 40, 100, 200 та 400 разів. Візуалізацію зображення та морфометрію здійснювали за допомогою морфометричної програми Quickphoto micro 2.3 (ліцензійна згода № 925113924), що дозволяє проводити 2737 пікселей. При морфологічному дослідженні вивчались структурні зміни нейронів сенсо-моторної зони кори великих півкуль головного мозку та гіпокампальних структур зони СА1 та стан судин у чотирьох групах: псевдооперованих щурів (моделювалась лише трепанаційна травма без дії безпосередньо травматичного фактору (пострілу)),

групи контролю (ЧМТ+NaCl 0,9%) та двох експериментальних групах - з модельованою ЧМТ та при застосуванні інфузій розчину амантадину сульфату та адемолу. Досліджувалась саме сенсомоторна кора, так як вона бере важливу участь в інтегративних процесах діяльності мозку щурів, що включає особливості, що потрібні для визначення положення тіла в просторі, корекції рухових команд, умовнорефлекторної діяльності, адекватної пристосувальної поведінки тощо.

При мікроскопії гістологічних препаратів та вивченні отриманих цифрових зображень оцінювали стан і склад структур уражених тканин головного мозку, а саме стан судин мікроциркуляторного русла та нейронів, наявність та характер патологічних та репаративних змін в них, стан білої речовини (наявність та ступінь вираженості набряку). Склад і співвідношення елементів та структур ураженої тканини головного мозку вивчався за допомогою імерсійної мікроскопії (збільшення 1000). Підрахунок структурних елементів здійснювався не менше ніж в 10 полях зору.

У процесі експерименту нами досліджені такі морфометричні показники показники ураженої тканини сенсомоторної ділянки кори великих півкуль та ділянки СА1 гіпокампу головного мозку щурів різних груп, як:

- Відносна площа перицелюлярного та периваскулярного набряку;
- Відносна площа судин мікроциркуляторного русла;
- Діаметр судин мікроциркуляторного русла;
- Кількість функціонуючих капілярів в 1 мм²;
- Кількість дегенеративно змінених нейронів та процентне співвідношення дегенеративно змінених та нормальних нейронів.

Методами хемо- та біоінформатики обґрунтували внутрішньовенне застосування адемолу, виявили здатність адемолу блокувати β -адренорецептори, а також за критеріями лікоподібності та біодоступності оцінили можливість його проходження через ГЕБ порівняно із еталонними β -адреноблокаторами (структурними аналогами за пропанаміновим фармакофором). Дослідження проводилось на базі Харківського національного

університету ім. В.Н. Каразіна, виконавець Редькін Р.Г.).

Алгоритм дослідження складався із двох етапів: 1) обрахунку та аналізу молекулярних дескрипторів молекули адемолу та референтних структур методами хемоінформатики; 2) молекулярного моделювання зв'язування колекції сполук із бета-1-адренорецепторами *insilico* за енергією зв'язування (метод біоінформатики).

Методи хемоінформатики. Всі обчислення молекулярних дескрипторів були зроблені за допомогою програмного комплексу SIB Swiss Institute of Bioinformatics (www.sib.swiss), розрахункової платформи (Vital-IT, www.vital-it.ch) та *MolinspirationCheminformaticsv2016.09*, 2016 (Університет Братислави, Словаччина), доступних *on-line* (www.molinspiration.com). Використовували стандартну IBM PC-сумісну персональну робочу станцію (ЦПУ PIV з тактовою частотою 1,4 ГГц, 512 Мб оперативної пам'яті) на платформі операційної системи Windows 2000 та пакет *Microsoft (MS) Office 2013*. В якості референтних структур для розрахунків було обрано кардіонеселективні β -адреноблокатори – тімолол, пропранолол, та високоліпофільний β -адреноблокатор – SR 59230A, який здатен блокувати гіпертермію, викликану NMDA у щурів [417]. Обрані для аналізу на першому етапі розрахункові параметри молекул або дескриптори – показник ліпофільності (LogP), площа полярних поверхонь молекул (TPSA), молекулярний об'єм, молекулярна маса, відносяться до класичних в області КЗСВ (кількісний зв'язок структура-властивості) аналізу та входять до набору так званих найважливіших дескрипторів визначених з 500 методом АГК (аналізу головних компонент, який в англійській літературі позначається як *Principal component analysis, PCA*) [60]. Вони напряму пов'язані з такими важливими властивостями молекули, як розмір, ліпофільність, конформаційна рухливість, здатність до утворення водневих зв'язків [402]. Важливими перевагами такого підходу є надійність, простота і висока швидкість їх обчислення, а також доступність програм для розрахунку.

Методи біоінформатики: докінг *insilico* на молекулярній мішені

клонованого бета-1-адренорецептора індички (PDBID 2vt4). Скринінг *in silico* складався з чотирьох основних етапів: підготовки бібліотеки лігандів, докінгу, оцінки результатів та процедури фільтрації. Джерело даних щодо структури комплексу рецептор-антагоніст – ProteinDataBank (PDB). В якості моделі бета-1-адренергічного рецептора відібрано структуру клонованого мутантного бета-1-адренорецептора рецептора (ADRB1_MELGA) індички (*Meleagris gallopavo*). Амінокислотна послідовність описаного рецептора ADRB1_MELGA становить 82% до людського бета-1-рецептора та 67% до людського бета-2-рецептора. Код структури комплексу ліганд-рецептор за даними PCA – код PDBID 2vt4, роздільна здатність 2,700 Å, R-factor=0,215 R-free=0,268 [416]. Моделювання проводили щодо ланцюгів A-D, довжина амінокислотної послідовності 313 амінокислот, молекулярна маса 148237,55 Да. Активний центр рецептора обмежено кубом зі стороною 3,9 Å, розташування якого визначається координатами відомого ліганду ціанопіндололу у вибраній кристалічній структурі (X=54,4123, Y=33,595, Z=-11,6943) для побудови мап енергетичних потенціалів атомів з інтервалом 0.375 Е. Лігандзв'язуюча кишеня бета-1-адренергічного рецептора містить 15 амінокислотних залишків з 4 бічних ланцюгів трансмембранних альфа-спіралей і 2 позаклітинні петлі. Ці петлі визначають вхід до ліганд-зв'язуючої кишені і стабілізується двома дисульфідними зв'язками та іоном натрію [24]. Для проведення процесу докінгу використовували програму AutoDockVina, інтегровану на он-лайн платформі mcule (http://doc.mcule.com/doku.php?id=dockingvina#docking_vina), що використовує алгоритм стикування Vina. Для процедури докінгу розраховано заряди молекул рецептора і лігандів за методом Гастейгера-Марсильї [404] за допомогою програми AutoDockVina. Пошук оптимальної геометрії комплексів проводився з використанням нерухливого активного центру і гнучких лігандів. Рухливість останніх визначалася обертанням навколо одинарних зв'язків, що не входять до складу циклу. Далі розраховували вигреш в енергії при утворенні відповідного комплексу (E_{Doc} , ккал/моль) – вільну енергію зв'язування з відповідним сайтом рецептора 2vt4 при T=298,15 К. Для 3D-візуалізації ми

використовуємо веб-переглядач GLmol на базі WebGL/Javascript (<http://webglmol.osdn.jp/index-en.html>). Під час утворення пози ліганд вміщували у сайт зв'язування, відбираючи його обертальні та поступальні ступені свободи. Згодом спорідненість оцінюється на основі сформованої пози. Для кожної структури робили 4 спроби, а найбільш активною позицією вважали таке розташування ліганду, якому відповідає найменша енергія (найбільший вигравш в енергії).

Термогравіметричні дослідження. Термогравіметричні дослідження, в розробці нових лікарських форм, застосовуються задля характеристики термічних профілів інгредієнтів рецептури, окреслення раціонального температурного режиму виготовлення лікарської форми з метою попередження руйнування діючих та допоміжних речовин, а також виявлення можливої взаємодії інгредієнтів рецептури між собою під час нагрівання [274].

Дослідження проведено на приладі дериватограф - «Shimadzu DTG-60» (Японія) з платиново-платинородієвою термопарою при нагріванні зразків в алюмінієвих тиглях (від 15 до 250 °C). В якості еталонної субстанції використовували α -Al₂O₃. Швидкість нагрівання складала 10°C за хвилину. Вивчали окремі інгредієнти - АФІ: адемол; допоміжні речовини: гліцерин, ГЕЦ, бензалконію хлорид; виготовлену готову назальну лікарську форму без діючих речовин та лікарську форму з адемолом. Маса досліджуваних зразків була від 16,08 мг до 73,29 мг. Отримані данні дериватограф графічно фіксував у вигляді кривих T, ДТА, TGA. Крива T на дериватограмі показує зміну температури, а крива TGA – зміну маси зразка в період дослідження. Крива ДТА відображає диференціювання теплових ефектів, містить інформацію про ендотермічні та екзотермічні максимуми, може бути використана для якісної оцінки дериватограми.

В подальшому в співпраці з кафедрою фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету (зав. каф. Беленічев І.Ф.) виготовлено дослідні зразки рідких назальних форм: назальна форма з комплексом допоміжних речовин без адемолу, а також назальна форма

з адемолом та обраними допоміжними речовинами згідно рецептури. Виготовлені назальні форми залишено на 1 добу, в прохолодному місці, далі проведено дериватографічні дослідження з метою порівняння теплових ефектів у модельних системах без АФІ та з АФІ.

Реологічні дослідження проведено за допомогою приладу - реометра MCR 302 (Anton Paar GmbH). В якості вимірювального пристрою, використовували коаксіальні циліндри CC27/T200/SS. В нижній статичний циліндр поміщали наважку назальної лікарської форми до відповідної заводської відмітки. Виконували ініціалізацію приладу, та вказували температуру дослідження ($29 \pm 0,5^\circ\text{C}$, $33 \pm 0,5^\circ\text{C}$, $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$), яка забезпечувалась вбудованим термостатом (Peltier temperature control for concentric cylinder systems, C-PTD 200). Обрана температура дослідження обумовлена неоднорідними значеннями температури в носовій порожнині, яка крім того може змінюватись під дією різних факторів.

Протягом всього дослідження програмне забезпечення RheoCompass реєструвало показники швидкості зсуву (Shear rate $\dot{\gamma}$, s^{-1}), напруги зсуву (Shear stress τ , Pa) та в'язкості (viscosity η , Pa·s (mPas)). Перед початком вимірювання верхній рухомий циліндр занурювали в статичний циліндр з попередньо внесеною наважкою дослідного назального засобу. Чекали до стабілізації температури в системі, далі поступово збільшували швидкість обертання верхнього циліндра від 1 до 500 (s^{-1}). Потім при максимальній швидкості обертання циліндра, протягом 10 хвилин, руйнували дослідний зразок, далі припиняли руйнування і чекали протягом 10 хвилин для відновлення системи. Після відновлення системи, дослідження проводили в зворотному напрямку - від максимальної швидкості обертання циліндра до мінімальної.

Доклінічні дослідження інтраназальної форми адемолу проведені як фрагмент науково-дослідної роботи Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова у співпраці із кафедрою технології ліків Запорізького державного медичного університету.

Експериментальне дослідження проводилося на 40 білих безпородних

щурах обох статей масою 170-230 г (10-12 тижнів життя до початку експерименту отриманих з розплідника ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України». Протягом карантину проводили щоденний огляд кожної тварини (поведінка та загальний стан), двічі на день тварин спостерігали в клітках (захворюваність і смертність). відповідні критеріям, були виключені з дослідження протягом карантину. Клітки з тваринами були поміщені в окремі кімнати. Світловий режим: 12 годин - світло, 12 годин - темрява. Температура повітря підтримувалася в межах 19-25 °С, відносна вологість - 50-70. Температура та вологість повітря реєструвалися щодня, було встановлено режим провітрювання, що забезпечує близько 15 об'ємів приміщення на годину. Дослідних тварин утримували на однакових раціонах, у звичайних умовах віварію. Раціон лабораторних тварин – стандартизований корм «Резон-1». У щурів вільний доступ до їжі та води, стрес-фактори виключені. Пацюки містилися у стандартних звичайних полікарбонатних клітках (Tecniplast S.p.A., Італія) з розмірами 610x435x215мм або 335x235x190мм на 5 тварин. Усі маніпуляції були проведені згідно з положенням про використання тварин у біомедичних дослідках (Страсбург, 1986 р., із змінами, внесеними у 1998 р.) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), які узгоджені з положеннями «Європейської конвенції хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей». Тварини були розбиті на чотири групи:

1. Інтактна група (10 тварин)
2. Контрольна група, експериментальний субарахноїдальний крововилив (СК) (10 тварин прооперовано)
3. Тварини з СК, які отримували протягом 7 днів внутрішньоочеревно розчин для інфузій Німотоп, Bayer, Німеччина у дозі 0,4 мг/кг (10 тварин прооперовано)
4. Тварини з СК, які отримували протягом 7 днів інтраназально Адемол-гель у дозі 2 мг/кг (10 тварин прооперовано).

Тварин помічали пікриновою кислотою.

Перед експериментом з метою приручення щурів тримали в руках 2-3 хвилини протягом 5 днів, що сприяло подальшим експериментальним дослідженням (відкрите поле). Анестезію проводили за допомогою внутрішньовенного введення натрію тіопенталу 40 мг/кг у хвостову вену за допомогою голки 26G. Перед анестезією з використанням натрію тіопенталу, щурів тримали під лампою розжарювання протягом 5 хвилин, щоб розширити хвостову вену. Операцію проводили в асептичних умовах на підігрітому столі (37°C) для підтримання тіла температура під час процедури. Для дезінфекції та потиличної пункції робочі ділянки оброблені розчином хлоргексидину на 70% етиловому спирті. Експериментальні тварини піддавалися субокципітальній пункції під загальним наркозом (тіопентал натрію 30 мг/кг). Модель СК була розроблена на основі методу Dudhani RV та ін, але при цьому аутокров вводили тільки один раз. Брили 0,20 мл крові із вени хвоста шприцом з гепарином. Потім робили пункцію великої потиличної цистерни і субарахноїдальний простір вводили аутокров (0,2 мл). Отвір закривали стоматологічним воском. Ця модель адекватна клінічним проявам геморагічного інсульту. Після операції поруч із напувалкою з водою ставили і напувалку з 6% розчином глюкози, дозволяючи тваринам пити і те, і інше. Корм поміщали на дні клітки, щоб полегшити їжу. Препарати вводили 1 раз на добу одночасно протягом 7 діб. На 7 добу після тестування тварин в установці «Відкрите поле» їх виводили з експерименту з тіопентал-натрієвим наркозом (40 мг/кг). У тварин із черевної аорти забиралися шприцом кров, з якої виділяли центрифугуванням сироватку, яку зберігали при -8°C. З головного мозку швидко видаляли кров, відокремлювали від мозкової оболонки і досліджувані шматочки поміщали в рідкий азот. Потім подрібнювали в рідкому азоті до порошкоподібного стану і гомогенізували в 10-кратному обсязі середовища при (2°C), що містить (у ммольях): сахарози – 250, трис-НСІ-буфера – 20, ЕДТА-1 (рН 7,4) . При температурі (+4°C) методом диференціального центрифугування на центрифугі рефрижераторної Sigma 3-30k (Німеччина) виділяли мітохондріальну фракцію. Для очищення мітохондріальної фракції від великих клітинних фрагментів

попередньо проводилося центрифугування протягом 7 хвилин при 1000 g, потім супернатант повторно центрифугували протягом 20 хвилин при 17000 g. Супернатант зливали та зберігали при -8°C. Первинним критерієм для оцінки нейропротективної дії досліджуваних препаратів – у гострому періоді СК як специфічний маркер у сироватці крові щурів визначали нейрон-специфічна енолаза (NSE). Також у сироватці крові визначався білок S100 (S100), що також відноситься до класу нейромаркерів і відображає активність нейроглії у відповідь на масивне руйнування нейронів. Вивільнення ферменту та білка з нейронів у кров є маркерами ушкодження нервової тканини. Активність NSE (нг/мл) та вміст S100 (нг/мл) визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням наборів NSE ELISA KIT # MBS2024030 (MyBioSource, Inc, USA) та S-100 ELISA KIT # LS-F25201 (Life). Як маркер запалення, що бере участь у механізмах вторинного пошкодження головного мозку, визначали IL-1b. Інформативну важливість цього маркера підтверджено роботами, якими виявлено кореляційний взаємозв'язок між підвищенням рівня IL-1b, ступенем тяжкості неврологічних порушень та дефіцитом ростових факторів (BDNF, IGF-1, PDGF). IL-1b визначали в цитозолі гомогенату головного мозку методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням наборів IL-1b ELISA KIT#KE10003 (Proteintech, USA). Як маркер оксидативного стресу та оцінки антиоксидантної дії досліджуваних препаратів у цитозолі гомогенату головного мозку щурів визначали нітротирозин методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням наборів NITROTYROSINE ELISA KIT#HK501 (HycultBiotech, USA). Дослідження проводили на мікропланшетному імуноферментному рідер Sirio-S (Seac Radim Company, Італія).

Дослідження проводили на базі відділу експериментальної патофізіології та функціональної морфології Навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету. Експерименти проводились у добре освітленій кімнаті у повній тиші. Під час проведення експериментів виключався вплив зовнішніх та внутрішніх візуальних, нюхових та слухових

стимулів. Оцінка поведінки тварин проводилася лаборантом, не обізнаним щодо належності тварини до конкретної експериментальної групи. Захоплення та запис зображення проводилося за допомогою кольорової відеокамери SSC-DC378P (Sony, Japan). Аналіз відео файлів проводився за допомогою програмного забезпечення Smartv 3.0 (HarvardApparatus, USA). Статистична обробка результатів проводилася за допомогою Microsoft Excel 2016 з пакетом статистичної обробки AtteStat 12. Для оцінки достовірності відмінностей у досліджуваних групах використовувався критерій Краскела-Уолліса з posthoc поправкою Данна. Вірогідними вважалися відмінності при $p < 0,05$.

2.6 Статистична обробка результатів

Кількісні дані обробляли за допомогою програми статистичної обробки StatPlus 2009. Використовували параметричний критерій t Ст'юдента у випадках нормального розподілу варіаційного ряду, непараметричний критерій Уайта – за його відсутності, парний критерій Т Вілкоксона – для визначення змін у динаміці всередині групи, кутове перетворення Фішера [102, 338] – при обліку результатів в альтернативній формі (наявність або відсутність певної ознаки). Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

РОЗРОБКА ТА АПРОБАЦІЯ ВЛАСНОСТВОРЕНОЇ МОДЕЛІ ЗАКРИТОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ У ЩУРІВ, ВИКЛИКАНОЇ ДІЄЮ ПОТОКУ ВУГЛЕКИСЛОГО ГАЗУ ПІД ТИСКОМ ДЛЯ ДОКЛІНІЧНОЇ ОЦІНКИ ПОТЕНЦІЙНИХ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРІВ

3.1 Характеристика моделі за динамікою показника летальності щурів в умовах модельної черепно-мозкової травми

Для нівелювання чи підтвердження впливу оперативного втручання на летальність щурів, було проведено трепанацію черепа тваринам в умовах пропофолового наркозу. Проведене дослідження показало, що у псевдооперованих щурів, яким в умовах пропофолового наркозу здійснювали трепанацію черепа за кістково-пластичною методикою летальність упродовж першої доби була відсутньою. Це вказує на той факт, що оперативне втручання не призводить до порушення діяльності мозку та інших вітальних органів і систем, яке може призвести до смерті тварини.

Модель ЧМТ у нашій роботі викликала пострілом пневматичного пістолету. Так, у щурів із моделлю ЧМТ, яка була викликана пострілом з пневматичного пістолету впритул до трепанаційного отвору в черепі упродовж першої доби відмічалось прогресуюче збільшення показника летальності: більше половини тварин (60%) загинуло упродовж перших 6 год від початку спостереження, що можна вважати за критичний рубіж для даної патології. В подальшому цей показник зростає, і через 20 год становив 80%, $p < 0,05$.

Нарощення відстані пострілу, закономірно знайшло своє віддзеркалення у виживаності щурів із моделлю ЧМТ. Так фіксоване віддалення дульного зрізу пневматичного пістолету від проекції трепанаційного отвору на 5 мм (0,5 см), супроводжувалось першими вірогідними змінами, починаючи вже з 4 год експерименту, коли показник летальності щурів був меншим відносно попередньої моделі в середньому на 30%, $p < 0,05$. Таке відсоткове

співвідношення було закономірним і зберігалось у всі наступні терміни реєстрації смертності і мало достеменний характер із вірогідністю 99,95%.

Таблиця 3.1 - Летальність щурів при моделюванні черепно-мозкової травми, викликаної шляхом холостих пострілів з різної відстані до центру трепанаційного отвору в черепі протягом першої доби експерименту ($M \pm m$, $n=10$)

| Умови досліджу | Динаміка летальності щурів у % через год | | | | | | | | | |
|--|--|---------|----------|----------|----------|----------|------------|------------|------------|------------|
| | 2 | 4 | 5 | 6 | 8 | 12 | 16 | 20 | 22 | 24 |
| Псевдооперовані тварини | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| ЧМТ (0 см – впритул) (контрольна патологія № 1) | 20 | 30* | 60* | 60* | 70* | 70* | 70* | 80* | 80* | 80* |
| ЧМТ (0,5 см) (контрольна патологія № 2) | 0 | 0 *1 | 30 *1 | 30 *1 | 40 *1 | 40 *1 | 40 *1 | 50 *1 | 50 *1 | 50 *1 |
| ЧМТ (1 см) (контрольна патологія № 3) | 0 | 10 | 10 * | 30 *1 | 30 *1 | 50 *1 | 70 *1;2 | 70 *1;2 | 80 *1;2 | 80 *1;2 |

Примітка 1. ЧМТ – черепно-мозкова травма.

Примітка 2. $p < 0,05$ відносно контрольної патології № 1.

Примітка 3. $p < 0,05$ відносно контрольної патології № 2.

Додаткове збільшення відстані холостого пострілу ще на 5 мм в перші 12 год експерименту не супроводжувалось зменшенням летальності щурів із ЧМТ. Однак, упродовж наступних годин (починаючи з 16 год), мало місце достеменне підвищення виживання, яке як і за попереднього дизайну, становило в середньому 30% і зберігалось упродовж доби.

Таким чином, за динамікою показника летальності, можна зробити попередній висновок, стосовно можливої класифікації ступеня важкості ЧМТ, який зростає від легкого до тяжкого в залежності від відстані пострілу, відповідно від 1 до 0 см (впритул).

3.2 Характеристика моделі за активністю сироваткового нейромаркера нейрон-специфічної енолази у щурів із модельною черепно-мозковою травмою. Класифікація ступенів тяжкості

Аналіз літературних даних, красномовно засвідчує той факт, що відсутність уніфікованого підходу для доклінічної оцінки ефективності препаратів церебропротекторної дії при ЧМТ, певним чином, обумовлена недосконалістю експериментальних моделей цієї патології. Саме тому, на початковому, скринінговому етапі оцінки наявності та величини захисних властивостей у адемоу на нейрони головного мозку при його травмі, першочерговою задачею стала розробка та апробація адекватної, репрезентативної моделі ЧМТ, при якій в якості уражаючого елементу було задіяно силу потоку вуглекислого газу під тиском при холостому пострілі із пневматичного пістолету. Паралельно здійснювалась розробка критеріїв оцінки величини та характеристики ступенів ЧМТ в залежності від відстані пострілу за змінами активності в сироватці крові маркерів деструкції нейронів. Запропонована стандартизована модель ЧМТ із використанням специфічних чутливих маркерів, які віддзеркалюють морфологічну цілісність нейронів, дозволить проводити екстраполяцію отриманих експериментальних даних на відповідну клінічну нозологію у людей. Це, у свою чергу, буде сприяти запровадженню в практичну медицину препаратів із нейроцитопротективною активністю для лікування травматичних уражень ЦНС. Детально методологію відтворення контузії описано у розділі 2 «Матеріали і методи досліджень». Результати, що характеризують зміни активності і рівнів нейромаркерів в сироватці крові при пострілі впритул до центру трепанаційного отвору наведено в табл. 3.2. При холостому (лише вуглекислий газ під тиском) пострілі із пневматичного пістолету впритул до центру трепанаційного отвору у правій півкулі мозку в місці проекції середньої мозкової артерії, на 24 год після моделювання патології, активність маркера мембранної цілісності нейронів NSE, вірогідно ($p < 0,05$) підвищилась в крові відносно значень у псевдооперованих тварин у середньому у 17,5 рази (група контрольної патології №1).

Таблиця 3.2 - Зміни маркерної активності нейрон-специфічної енолази у сироватці крові щурів при моделюванні черепно-мозкової травми, викликаній шляхом холостих пострілів з різної відстані до центру трепанаційного отвору в черепі тварин на 24 год експерименту ($M \pm m$, $n=10$)

| Дослідні групи | Рівень активності NSE, нг/мл |
|--|------------------------------|
| Псевдооперовані тварини | $0,126 \pm 0,012$ |
| ЧМТ (0 см – впритул) (контрольна патологія № 1) | $2,209 \pm 0,045^*$ |
| ЧМТ (0,5 см) (контрольна патологія № 2) | $0,812 \pm 0,024^{*1}$ |
| ЧМТ (1 см) (контрольна патологія № 3) | $0,670 \pm 0,03^{*1; 2}$ |

Примітка 1. * – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 2. $p < 0,05$ відносно контрольної патології № 1.

Примітка 3. $p < 0,05$ відносно контрольної патології № 2.

Подібне зростання активності NSE, вказує на розвиток суттєвої деструкції нейронів головного мозку, яке відбувається по типу некробіозу.

При холостому пострілі на фіксованій відстані 0,5 см до центру трепанаційного отвору, через 24 год після моделювання патології, активність маркера мембранної цілісності нейронів вірогідно підвищилась відносно початкових значень в середньому у 6,4 рази, що в середньому на 63,2% ($p < 0,05$) менше ніж при пострілі впритул (табл. 3.2). Подібне зростання активності NSE, як і у попередній серії (табл. 3.2), також вказує на розвиток нейродеструкції, хоча ці зміни є менш виразними ніж в першому випадку, $p < 0,05$.

Отже, заплановане подовження відстані пострілу на 5 мм (від 0 до 0,5 см), знайшло своє закономірне віддзеркалення у послабленні нейродеструктивних змін в мозку, які, попри це, зберігають статистично вірогідні критерії, вказуючи тим самим на адекватність даної моделі для формування ЧМТ.

Якщо взяти за основу класифікації інтенсивності дегенеративних явищ при контузії ГМ рівень та активність маркерів в залежності від відстані пострілу (відстані дії вуглекислого газу під тиском), то варіант моделювання

контузії, описаний на початку розділу (табл. 3.1), можна віднести до важкого ступеня тяжкості.

Варіант моделі, що наведений у другому прикладі відповідає середньому ступеню. Відповідно до цього, дані таблиці, є діагностичними критеріями різних варіантів перебігу модельної ЧМТ, а саме активність NSE в межах $2,209 \pm 0,045$ та $0,812 \pm 0,024$ нг/мл, окреслює ЧМТ важкого та середнього ступеня важкості.

Отримані результати активності нейромаркерів при збільшенні відстані пострілу від 0 см до 1,0 см, наведено далі. Збільшення фіксованої відстані (табл. 3.1) ще на 5 мм (від 0,5 до 1,0 см) до центру трепанаційного отвору, через 24 год після моделювання патології, активність маркера мембранної цілісності нейронів вірогідно ($p < 0,05$) підвищилась відносно початкових значень в середньому у 5,3 рази, що в середньому на 69,7% ($p < 0,05$) менше ніж при пострілі з відстані 0 см (табл. 3.2). Відповідно до цього, активність енoлази в цій групі при такому дизайні експерименту становить в середньому $0,670 \pm 0,03$ нг/мл і відповідає ЧМТ легкого ступеня важкості (табл. 3.3).

Таким чином, класифікація ЧМТ в залежності від відстані пострілу до центру трепанаційного отвору в черепі щурів, виглядає наступним чином:

Таблиця 3.3 - Класифікація ЧМТ в залежності від відстані пострілу до центру трепанаційного отвору в черепі щурів

| Дослідні групи | Рівень активності NSE (нг/мл) | Ступінь важкості ЧМТ |
|--|-------------------------------|----------------------|
| Псевдооперовані тварини | $0,126 \pm 0,012$ | – |
| ЧМТ (0 см – впритул) (контрольна патологія № 1) | $2,209 \pm 0,045$ | Тяжкий |
| ЧМТ (0,5 см) (контрольна патологія № 2) | $0,812 \pm 0,024$ | Середній |
| ЧМТ (1 см) (контрольна патологія № 3) | $0,670 \pm 0,03$ | Легкий |

1.3 Характеристика моделі за картиною неврологічного дефіциту у щурів із моделлю черепно-мозкової травми

Як свідчать літературні дані, інтегративними показниками, що дозволяють оцінити якість захисного впливу потенційного нейропротектора на ушкоджений головний мозок, поряд із зменшенням летальності, є швидка ліквідація неврологічного дефіциту, що асоційовано із покращенням мнестичних функцій [86; 88]. Саме тому, для апробація розробленої нами моделі ЧМТ та класифікації ступенів її важкості в залежності від дії альтеруючого чинника, було доцільним дати оцінку динамічним змінам неврологічного статусу щурів у критичний період експерименту (6 год при пострілі впритул) та наприкінці експерименту.

Проведене дослідження показало, що ЧМТ у щурів викликала тяжкі неврологічні зміни: паралічі, парези, птоз із максимальним проявом на 24 год (табл. 3.4). Для визначення наявного неврологічного дефіциту у щурів різних груп із ЧМТ залучили шкалу stroke-index С.Р. McGraw [310], яка адаптована для щурів та була використана у нашому дослідженні. Згідно авторській класифікації важкість стану можна визначити за сумою відповідних балів: до 3 балів – легкий ступінь, від 3 до 7 балів – середній ступінь, вище 7 балів – тяжкий ступінь.

При холостому (лише вуглекислий газ під тиском) пострілі на 6 год після моделювання патології, середній бал за шкалою С.Р. McGraw складав 9,3 бали, що відповідає тяжкому ступеню неврологічної симптоматики. Наприкінці експерименту неврологічний статус тварин цієї групи ще більше погіршився і становив в середньому $14,3 \pm 0,54$ бали. Отже, згідно класифікації С.Р. McGraw, умови моделювання травми за таким дизайном, забезпечує формування неврологічного дефіциту тяжкого ступеня, що співпадає із нашою класифікацією ЧМТ, розробленою на основі летальності та нейромаркерної активності.

Отже, зростання відстані дії травмуючого агенту, закономірно знайшло своє відображення у послабленні неврологічного дефіциту з тяжкого до легкого

ступеня, яким відповідали середні бали за шкалою С.Р. McGraw станом на 24 год ЧМТ відповідно $10,1 \pm 0,37$ та $9,1 \pm 0,27$.

Таблиця 3.4 - Зміни неврологічного дефіциту у щурів при моделюванні черепно-мозкової травми, викликаній шляхом холостих пострілів з різної відстані до центру трепанаційного отвору в черепі тварин на 24 год експерименту в балах ($M \pm m$, $n=10$)

| Групи тварин | Термін, год | |
|---|-------------------------|-------------------------|
| | 6 (критичний період) | 24 год |
| Псевдооперовані тварини | $0,0 \pm 0,0$ | $0,0 \pm 0,0$ |
| Контрольна патологія ЧМТ + 2 мл/кг 0,9% NaCl | $9,3 \pm 0,25$ | $14,3 \pm 0,54$ |
| ЧМТ (0 см) (контрольна патологія № 1) | $8,5 \pm 0,26^{*•}$ | $13,8 \pm 0,32^{*•}$ |
| ЧМТ (0, 5 см) (контрольна патологія № 2) | $6,4 \pm 0,23^{*1•}$ | $10,1 \pm 0,37^{*1•}$ |
| ЧМТ (1 см) (контрольна патологія № 3) | $5,6 \pm 0,14^{*1;2;•}$ | $9,1 \pm 0,27^{*1;2;•}$ |

Примітка 1. * – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 2. $p < 0,05$ відносно контрольної патології № 1.

Примітка 3. $p < 0,05$ відносно контрольної патології № 2.

Примітка 4. • – $p < 0,05$ відносно критичного періоду.

Перелік публікацій, в яких висвітлено основні матеріали даного розділу:
[327, 419, 434]

РОЗДІЛ 4

ОЦІНКА НЕЙРОПРОТЕКТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АДЕМОЛУ В УМОВАХ МОДЕЛЬНОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ

4.1. Пошук умовно-ефективної церебропротективної дози адемолу та референс-препаратів за динамікою показника летальності щурів в умовах модельної черепно-мозкової травми

На сьогодні основною складовою інтенсивної терапії при ЧМТ є терапія, яка включає в себе ряд заходів, що направлені на спроможність попереджати розвиток та корегувати прояви порушення гомеостазу, що ідуть поряд з травматичним пошкодженням головного мозку. Одним із ускладнень, що супроводжують ЧМТ є гостра церебральна ішемія. Вибір ЛЗ при травматичних ушкодженнях ГМ є однією з найбільш складних проблем в комплексі лікування таких хворих [162].

В ході проведеного експерименту виявлено, що у псевдооперованих тварин, яким проводили кістково-пластичну трепанацію у місці проекції правої середньої мозкової артерії без здійснення холостого пострілу (тобто без моделювання ЧМТ), упродовж усього терміну спостереження не було відмічено жодного випадку летальності. Отже, саме оперативне втручання, як це вже було зазначено вище не супроводжується смертністю, що вказує на задовільну оперативну техніку та перебіг післяопераційного періоду без ускладнень.

Для об'єктивної, ґрунтовної та змістовної порівняльної оцінки дії адемолу та референсних препаратів була використана модель ЧМТ лише важкого ступеня тяжкості. У щурів (група контрольної патології) із моделлю ЧМТ+0,9% NaCl, яка була викликана пострілом з пневматичного пістолету впритул до трепанаційного отвору в черепі щурів упродовж першої доби відмічалось прогресуюче збільшення показника летальності (табл. 4.1). У щурів груп контрольної патології, де в якості перманентної терапії вводили 0,9% розчин NaCl в дозах 1; 2 та 4 мл/кг в усі періоди ЧМТ, показник смертності залишався стабільним, з тенденцією до поступового збільшення.

Так, у групі контрольної патології (ЧМТ+0,9% NaCl 2 мл/кг) більше

половини тварин (60%) загинуло упродовж перших 6 год від початку спостереження, що можна вважати за критичний рубіж для даної патології. В подальшому цей показник зростав, і через 20 год становив 80%, $p < 0,05$. Наприкінці експерименту, а це 8 доба після моделювання ЧМТ нами було зареєстровано загибель 90-95% щурів груп контрольної патології. Подібна негативна динаміка смертності щурів з ЧМТ важкого ступеня на тлі 0,9% розчину NaCl впродовж усього експерименту вказує на те, що упродовж усього часу спостереження в експерименті інтенсивно відбуваються процеси патобіохімічного каскаду в нейронах ГМ із формуванням вогнища ішемії та зони пенумбри. Максимально, ці явища відбуваються у перші 24 год (див. табл. 4.1), а з другої доби (див. табл. 4.2), процес організації нейродеструктивної зони перебігає менш стрімко, однак, неухильно, що і відображається у низькій виживаємості на 8-му добу в межах 5-10% для різних доз 0,9% NaCl.

Проводячи порівняльний аналіз використання різних доз 0,9% NaCl при ЧМТ, а саме: 1; 2 та 4 мл/кг можна помітити відсутність статистично достовірної різниці летальності при міжгруповому порівнянні ($p > 0,05$).

В зв'язку з тим, що в подальшому в експерименті умовно-ефективна доза адемолу найбільше відповідає еквівалентній об'ємній дозі 2 мл/кг 0,9% NaCl, дана доза в контрольній групі була обрана за дозу порівняння.

Аналіз нейропротективних властивостей усіх досліджуваних препаратів за критерієм їх спроможності знижувати летальність щурів з ЧМТ важкого ступеня, свідчить про наявність у них нейропротективної активності в умовах даного патологічного стану. Суттєві терапевтичні ефекти були реалізовані при 8-денному застосуванні адемолу в дозах 1 та 2 мг/кг (летальність відповідно 35 та 30%). Так, упродовж 8 діб модельної ЧМТ на фоні лікування Адемолом аналіз ефективності застосування даного препарату та скринінг умовно-ефективної церебропротективної дози Адемолу за показником летальності вказує на те, що максимальна терапевтична дія досліджуваного препарату проявилась при його застосуванні у дозі 2 мг/кг, яка є умовно-ефективною в умовах даного патологічного стану (табл. 4.3).

Таблиця 4.1 - Вплив інфузійного розчину 0,9% NaCl на летальність щурів з ЧМТ, n=20

| № групи | Умови дослідю | Доза 0,9% NaCl | Летальність (%) в різні строки після моделювання ЧМТ (години) | | | | | | | | | | | |
|---------|--|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | | | 1 | 2 | 4 | 5 | 6 | 8 | 12 | 16 | 20 | 22 | 24 | 28 |
| 1 | Контрольна патологія (ЧМТ+ 0,9% NaCl) | 1 мл/кг | 10 | 20 | 40 | 40 | 50 | 70 | 70 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 |
| 2 | Контрольна патологія (ЧМТ+ 0,9% NaCl) | 2 мл/кг | 10 | 20 | 30 | 60 | 60 | 70 | 70 | 70 | 80 | 80 | 80 | 80 |
| 3 | Контрольна патологія (ЧМТ+ 0,9% NaCl) | 4 мл/кг | 20 | 30 | 50 | 50 | 60 | 70 | 80 | 80 | 80 | 80 | 90 | 90 |

Таблиця 4.2 - Вплив курсової інфузії 0,9 % розчину NaCl на летальність щурів із ЧМТ

| Термін, год. | Летальність, абс. / % | | | |
|-----------------|--|--|--|---|
| | Псевдооперовані тварини+0,9% NaCl (2 мл/кг), n=20 | Контрольна патологія (ЧМТ+1 мл/кг 0,9% NaCl), n=20 | Контрольна патологія (ЧМТ+2 мл/кг 0,9% NaCl), n=20 | Контрольна патологія (ЧМТ+4 мл/кг 0,9% NaCl), n=20 |
| 28 год | 0 / 0% | 16 / 80% ° | 16 / 80% ° | 16 / 80% ° |
| 30 год | 0 / 0% | 16 / 80% ° | 16 / 80% ° | 16 / 80% ° |
| 36 год | 0 / 0% | 16 / 80% ° | 16 / 80% ° | 16 / 80% ° |
| 48 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 17 / 85% ° | 17 / 85% ° |
| 60 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 17 / 85% ° | 17 / 85% ° |
| 72 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 17 / 85% ° | 17 / 85% ° |
| 96 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 17 / 85% ° | 17 / 85% ° |
| 5 доба | 0 / 0% | 18 / 90% ° | 18 / 90% ° | 18 / 90% ° |
| 6 доба | 0 / 0% | 18 / 90% ° | 18 / 90% ° | 18 / 90% ° |
| 7 доба | 0 / 0% | 19 / 95% ° | 18 / 90% ° | 18 / 90% ° |
| 8 доба | 0 / 0% | 19 / 95% ° | 18 / 90% ° | 18 / 90% ° |

Примітка 1. ° – $p < 0,01$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 2. ° – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин.

Таблиця 4.3 - Вплив курсової інфузії адемолу на летальність щурів із ЧМТ

| Термін, год | Летальність, абс. / % | | | | |
|----------------|--|---|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| | Псевдооперовані тварини+0,9% NaCl (2 мл/кг), n=20 | Контрольна патологія (ЧМТ+2 мл/кг 0,9% NaCl) n=20 | ЧМТ+адемола (1 мг/кг в/в) n=20 | ЧМТ+адемола (2 мг/кг в/в) n=20 | ЧМТ+адемола (4 мг/кг в/в) n=20 |
| 28 год | 0 / 0% | 16 / 80% ° | 0 / 0%* | 0 / 0%* | 1 / 5%* |
| 30 год | 0 / 0% | 16 / 80% ° | 0 / 0%* | 0 / 0%* | 2 / 10% ∞* |
| 36 год | 0 / 0% | 16 / 80% ° | 2 / 10% ∞* | 0 / 0%* | 4 / 20% °* |
| 48 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 3 / 15% °* | 0 / 0%* | 6 / 30% °* |
| 60 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 7 / 35% °* | 2 / 10% ∞* | 7 / 35% °* |
| 72 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 7 / 35% °* | 2 / 10% ∞* | 7 / 35% °* |
| 96 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 7 / 35% °* | 6 / 30% °* | 7 / 35% °* |
| 5 доба | 0 / 0% | 18 / 90% ° | 7 / 35% °* | 6 / 30% °* | 8 / 40% °* |
| 6 доба | 0 / 0% | 18 / 90% ° | 7 / 35% °* | 6 / 30% °* | 8 / 40% °* |
| 7 доба | 0 / 0% | 18 / 90% ° | 7 / 35% °* | 6 / 30% °* | 9 / 45% °* |
| 8 доба | 0 / 0% | 18 / 90% ° | 7 / 35% °* | 6 / 30% °* | 10 / 50% °* |

Примітка 1. ° – $p < 0,01$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 2. ∞ – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 3. * – $p < 0,01$ відносно контрольної патології.

Внутрішньовенна інфузія адемолу в дозі 2 мг/кг забезпечувала статистично достовірний церебропротекторний ефект упродовж перших 2-х діб спостереження. Підвищення, аналогічно, як і зменшення цієї дози удвічі – не знайшло віддзеркалення у вірогідному зменшенні летальності порівняно з дозою 2 мг/кг. Так, упродовж перших трьох діб терапії ЧМТ розчином адемолу, його внутрішньовенна інфузія дозою 2 мг/кг вірогідно переважала за деескалацією рівня смертності тварин із модельною травмою головного мозку його застосування у дозах 1 та 4 мг/кг. На противагу цьому, в групі контрольної патології показник летальності щурів з ЧМТ дорівнював 85%. В кінці спостереження, станом на 8-му добу ЧМТ, летальність у цій дослідній групі була лише 30%, що є на 60% меншою ніж у групі контролю ($p < 0,01$).

Скринінг умовно-ефективної церебропротективної дози амантадину сульфату (табл. 4.4) в дозах 2,5; 5 та 10 мг/кг показав, що вірогідної різниці в ефективності даних доз помічено не було і відповідно для проведення експерименту обрана доза 5 мг/кг, виходячи з принципу обирати дозу меншу при однаковій ефективності.

При скринінгу умовно-ефективної дози магнію сульфату застосовувався препарат в дозах 200, 250 та 300 мг/кг в/в. Аналізуючи отримані дані спостерігаємо збільшення летальності тварин, які отримували магнію сульфат в дозі 200 мг/кг та 300 мг/кг в порівнянні з дозами 250 (табл. 4.5). Відповідно, при введенні доз 200 та 300 мг/кг достовірної різниці в летальності щурів не спостерігали, тому для подальшого дослідження обрана умовно-ефективна доза магнію сульфату 250 мг/кг в/в у зв'язку з найменшою летальністю при дослідженні різних доз даного ЛЗ.

При проведенні міжгрупового порівняння ефективності лікування, а саме груп: адемолу 2 мг/кг, амантадину 5 мг/кг та магнію сульфату 250 мг/кг отримані дані свідчать, що введення адемолу в дозі 2 мг/кг в/в порівняно з інфузією розчинів амантадину та магнію сульфату виявилось статистично достовірно більш ефективним ($p < 0,05$) упродовж перших 72 год терапії (табл. 4.6), що відповідає найгострішому періоду ЧМТ.

Таблиця 4.4 - Вплив курсової інфузії амантадину сульфату на летальність щурів із ЧМТ

| Термін, год | Летальність, абс. / % | | | | |
|----------------|---|---|--|--|---|
| | Псевдооперовані тварини+0,9% NaCl (2 мл/кг), n=20 | Контрольна патологія (ЧМТ+2 мл/кг 0,9% NaCl) n=20 | ЧМТ+ амантадину сульфат (2,5 мг/кг в/в) n=20 | ЧМТ+ амантадину сульфат (5 мг/кг в/в) n=20 | ЧМТ+ амантадину сульфат (10 мг/кг в/в) n=20 |
| 28 год | 0% | 16 / 80% ° | 0% *# | 0 / 0% *# | 0 / 0% *# |
| 30 год | 0% | 16 / 80% ° | 2 / 10% ∞* | 2 / 10% ∞* | 2 / 10% ∞* |
| 36 год | 0% | 16 / 80% ° | 2 / 10% ∞* | 2 / 10% ∞* | 2 / 10% ∞* |
| 48 год | 0% | 17 / 85% ° | 4 / 20% °* | 4 / 20% °* | 3 / 15% °* |
| 60 год | 0% | 17 / 85% ° | 8 / 40% °* | 6 / 30% °* | 7 / 35% °* |
| 72 год | 0% | 17 / 85% ° | 9 / 45% °* | 7 / 35% °* | 7 / 35% °* |
| 96 год | 0% | 17 / 85% ° | 9 / 45% °* | 7 / 35% °* | 7 / 35% °* |
| 5 доба | 0% | 18 / 90% ° | 9 / 45% °* | 7 / 35% °* | 7 / 35% °* |
| 6 доба | 0% | 18 / 90% ° | 10 / 50% °* | 8 / 40% °* | 7 / 35% °* |
| 7 доба | 0% | 18 / 90% ° | 10 / 50% °* | 8 / 40% °* | 8 / 40% °* |
| 8 доба | 0% | 18 / 90% ° | 10 / 50% °* | 8 / 40% °* | 8 / 40% °* |

Примітка 1. ° – $p < 0,01$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 2. ∞ – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 3. * – $p < 0,01$ відносно контрольної патології.

Примітка 4. # – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату.

Таблиця 4.5 - Вплив курсової інфузії магнію сульфату на летальність щурів із ЧМТ

| Термін, год | Летальність, абс. / % | | | | |
|----------------|---|--|--|--|--|
| | Псевдооперовані тварини +0,9% NaCl (2 мл/кг), n=20 | Контрольна патологія (ЧМТ+2 мл/кг 0,9% NaCl) n=20 | ЧМТ+магнію сульфат (200 мг/кг в/в) n=20 | ЧМТ+магнію сульфат (250 мг/кг в/в) n=20 | ЧМТ+магнію сульфат (300 мг/кг в/в) n=20 |
| 28 год | 0 / 0% | 16 / 80% ° | 1 / 5%* | 1 / 5%* | 1 / 5%* |
| 30 год | 0 / 0% | 16 / 80% ° | 2 / 10% °* | 2 / 10% °* | 2 / 10% °* |
| 36 год | 0 / 0% | 16 / 80% ° | 3 / 15% °* | 3 / 15% °* | 3 / 15% °* |
| 48 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 5 / 25% °* | 5 / 25% °* | 5 / 25% °* |
| 60 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 7 / 35% °* | 7 / 35% °* | 7 / 35% °* |
| 72 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 9 / 45% °* | 7 / 35% °* | 7 / 35% °* |
| 96 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 9 / 45% °* | 7 / 35% °* | 7 / 35% °* |
| 5 доба | 0 / 0% | 18 / 90% ° | 9 / 45% °* | 7 / 35% °* | 7 / 35% °* |
| 6 доба | 0 / 0% | 18 / 90% ° | 11 / 55% °* | 8 / 40% °* | 8 / 40% °* |
| 7 доба | 0 / 0% | 18 / 90% ° | 12 / 60% °* | 8 / 40% °* | 11 / 55% °* |
| 8 доба | 0 / 0% | 18 / 90% ° | 13 / 65% °* | 11 / 55% °* | 14 / 70% °* |

Примітка 1. ° – $p < 0,01$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 2. ° – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 3. * – $p < 0,01$ відносно контрольної патології.

Таблиця 4.6 - Вплив курсової інфузії адемолу, амантадину та магнію сульфату на летальність щурів із ЧМТ

| Термін, год | Летальність, абс. / % | | | | | | |
|----------------|--|---|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--|---|
| | Псевдооперовані тварини+0,9% NaCl (2 мл/кг), n=20 | Контрольна патологія (ЧМТ+2 мл/кг 0,9% NaCl) n=20 | ЧМТ+адемола (1 мг/кг в/в) n=20 | ЧМТ+адемола (2 мг/кг в/в) n=20 | ЧМТ+адемола (4 мг/кг в/в) n=20 | ЧМТ+амантадину сульфат (5 мг/кг в/в) n=20 | ЧМТ+магнію сульфат (250 мг/кг в/в) n=20 |
| 28 год | 0 / 0% | 16 / 80% ° | 0 / 0%*# | 0 / 0%*\$ | 1 / 5%* | 0 / 0%*# | 1 / 5%*# |
| 30 год | 0 / 0% | 16 / 80% ° | 0 / 0%*#•€ | 0 / 0%*•\$€ | 2 / 10% ∞* | 2 / 10% ∞* | 2 / 10% ∞*# |
| 36 год | 0 / 0% | 16 / 80% ° | 2 / 10% ∞* | 0 / 0%*#•\$ | 4 / 20% ∞* | 2 / 10% ∞* | 3 / 15% ∞* |
| 48 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 3 / 15% ∞* | 0 / 0%*#•\$ | 6 / 30% ∞* | 4 / 20% ∞* | 5 / 25% ∞* |
| 60 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 7 / 35% ∞* | 2 / 10% ∞*#•\$€ | 7 / 35% ∞* | 6 / 30% ∞* | 7 / 35% ∞* |
| 72 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 7 / 35% ∞* | 2 / 10% ∞*#•\$€ | 7 / 35% ∞* | 7 / 35% ∞* | 7 / 35% ∞* |
| 96 год | 0 / 0% | 17 / 85% ° | 7 / 35% ∞* | 6 / 30% ∞* | 7 / 35% ∞* | 7 / 35% ∞* | 7 / 35% ∞* |
| 5 доба | 0 / 0% | 18 / 90% ° | 7 / 35% ∞* | 6 / 30% ∞* | 8 / 40% ∞* | 7 / 35% ∞* | 7 / 35% ∞* |
| 6 доба | 0 / 0% | 18 / 90% ° | 7 / 35% ∞* | 6 / 30% ∞* | 8 / 40% ∞* | 8 / 40% ∞* | 8 / 40% ∞* |
| 7 доба | 0 / 0% | 18 / 90% ° | 7 / 35% ∞* | 6 / 30% ∞* | 9 / 45% ∞* | 8 / 40% ∞* | 8 / 40% ∞* |
| 8 доба | 0 / 0% | 18 / 90% ° | 7 / 35% ∞* | 6 / 30% ∞*#• | 10 / 50% ∞* | 8 / 40% ∞* | 11 / 55% ∞* |

Примітка 1. ° – p<0,01 відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 2. ∞ – p<0,05 відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 3. * – p<0,01 відносно контрольної патології.

Примітка 4. # – p<0,05 відносно амантадину сульфату (5 мг/кг в/в)

Примітка 5. • – p<0,05 відносно магнію сульфату (250 мг/кг в/в).

Примітка 6. \$ – p<0,05 відносно адемола (1 мг/кг в/в)

Примітка 7. € – p<0,05 відносно адемола (4 мг/кг в/в).

Міжгрупове порівняння ефективності лікування на 8 добу спостереження свідчить про достовірну перевагу застосування адемолу та максимальний прояв церебропротекторної дії препарату в дозі 2 мг/кг відповідно над групами амантадину сульфату 5 мг/кг та магнію сульфату 250 мг/кг ($p < 0,05$).

Таким чином, результати проведеного скринінгу стосовно змін показників смертності (летальності) та виживання щурів із важкою ЧМТ свідчать про те, що серед досліджуваних препаратів найбільшу захисну дію на ГМ проявив адемол в дозі 2 мг/кг в/в, вірогідно перевершуючи розчини амантадину сульфату та магнію сульфату упродовж перших 72 год травми. Так, за показником виживання тварин із ЧМТ, адемол вірогідно переважає аналогічний ефект обох референтів амантадину сульфату 5 мг/кг та магнію сульфату 250 мг/кг, перевершуючи їх ефективність в середньому на 33% та 83% відповідно на 8 добу спостереження. При цьому, дієвість препаратів порівняння є відносно співставимою, як за величиною церебропротекторної дії, яка оцінюється за зміною показника летальності, так і за тривалістю такого впливу. Отримані дані стосовно найбільшої нейропротекторної активності адемолу саме дозою 2 мг/кг в/в дають змогу зробити висновок, проте, що з поміж інших досліджуваних доз (1 та 4 мг/кг) саме вона є умовно-ефективною.

4.2 Дослідження неврологічного дефіциту у щурів із моделлю черепно-мозкової травми у щурів на тлі Адемолу та оцінка його мнемотропної активності

Оцінка літературних джерел свідчить про те, що інтегральними показниками, аналіз яких дозволяє оцінити ступінь протекторного впливу потенційного нейроцеребропротектора на ушкодженний головний мозок, поряд із зменшенням рівня летальності, є швидка зворотня деескалація розвитку неврологічного дефіциту, а також покращення мнестичних функцій [211, 417].

Саме тому було доцільним провести оцінку церебропротекторних

властивостей інтенсивної терапії ЧМТ адемолом визначеної умовно-ефективної дози 2 мг/кг в/в за динамікою неврологічного статусу щурів в порівнянні з іншими досліджуваними ЛЗ, що у визначених дозах показали найменшу летальність (табл. 4.7).

Таблиця 4.7 - Вплив курсової інфузії адемолу, амантадину та магнію сульфату на неврологічний дефіцит у щурів із черепно-мозковою травмою на 8-му добу експерименту ($M \pm m$, $n=10$)

| Група тварин | Неврологічний дефіцит за шкалою С.Р. McGrow | |
|---|---|--------------------------|
| | 1 доба | 8 доба |
| Псевдоперовані тварини+ 0,9% розчин NaCl | 0,3±0,25 | 0,00±0,00 |
| ЧМТ + 0,9% розчин NaCl (контрольна патологія) | 16,25±0,25 | 15,80±0,62 |
| ЧМТ + адемолом, 2 мг/кг в/в | 12,3±0,23 ^{°*} | 9,40±0,29 ^{°*#} |
| ЧМТ + амантадину сульфат, 5 мг/кг в/в | 13,5±0,26 ^{°*} | 11,00±0,31 ^{°*} |
| ЧМТ + магнію сульфат, 250 мг/кг в/в | 15,33±0,30 ^{°*} | 12,30±0,31 ^{°*} |

Примітка 1. [°] – $p < 0,05$ відносно псевдоперованих тварин.

Примітка 2. ^{*} – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. [#] – $p < 0,05$ відносно групи амантадину сульфату (5 мг/кг в/в).

Примітка 4. [•] – $p < 0,05$ відносно групи магнію сульфату (250 мг/кг в/в).

Проведене дослідження показало, що як і наприкінці першої доби ЧМТ, так і через 8-м діб після моделювання патології, у щурів мали місце важкі неврологічні зміни: судоми, паралічі, парези та птоз, які в групі контрольної патології не зникали повністю. Однак, за балами по шкалі С.Р. McGrow неврологічний дефіцит у щурів із ЧМТ важкого ступеню, що отримували лише 0,9% розчин NaCl на 24 год після отримання травми є співвідносним із таким, що мав місце на 8-му добу,

та достеменно не відрізнявся. Так, тваринам, яким в якості терапії ЧМТ вводили лише 0,9% розчин NaCl (контрольна патологія), середній бал за шкалою С.Р. McGrow на 1 та 8 день дослідження складав: $16,25 \pm 0,25$ та $15,80 \pm 0,62$ відповідно, що відповідає тяжкому ступеню неврологічної симптоматики, і корелює із високим показником летальності (90%). Варто зазначити, що застосування 0,9% розчин NaCl протягом 8 діб не спричиняло зменшенню летальності та неврологічного дефіциту відповідно.

Аналізуючи вплив курсової терапії розчином адемолу умовно-ефективною дозою 2 мг/кг в/в на ступінь деескалації неврологічного дефіциту, можна зазначити, що за цією властивістю досліджуваний препарат переважав препарати порівняння амантадину та магнію сульфату на 1 добу застосування відповідно на 10% та 24% при цьому по відношенню до магнію сульфату ця різниця була вірогідною ($p < 0,05$). Аналізуючи ефективність проведеної терапії ЧМТ на 8 добу спостереження, застосування розчину адемолу показало зменшення неврологічного дефіциту ще більш динамічне ніж на 1-шу добу дослідження, так досліджуваний препарат достовірно переважав розчини амантадину на 17% та магнію сульфату на 30% – при цьому середній бал за шкалою С.Р. McGrow у цій групі становив $9,40 \pm 0,29$ проти $11,00 \pm 0,31$ та $12,30 \pm 0,31$ у групах порівняння.

Щодо відновлення мнестичних функцій при ЧМТ, восьмиденна терапія щурів розчинами амантадину та магнію сульфату дещо покращувала пам'ять, але поступалась за ефективністю адемолу умовно-ефективною дозою 2 мг/кг в/в, який краще наближав показники тесту УРПУ до результатів псевдооперованих тварин (табл. 4.9). Так, латентний період УРПУ у щурів, що отримували адемола та референс-препарати, вірогідно покращився відповідно: 11,00; 13,70 та 15,3 порівняно з контрольною групою 19,7 ($p \leq 0,05$) (табл. 4.8).

Отже, у щурів із важкою ЧМТ спостерігались тяжкий неврологічний дефіцит, погіршення процесів навчання і пам'яті у відновному періоді. адемола ліпше за препарати порівняння сприяв зменшенню виразності неврологічних

порушень, що супроводжувалося покращенням мнестичних функцій у тварин із ЧМТ на 8-му добу.

Таблиця 4.8 - Вплив курсової інфузії адемолу, амантадину та магнію сульфату на навчання та пам'ять щурів і з черепно-мозковою травмою за тестом умовної реакції пасивного уникнення (кінець 8-ої доби)($M \pm m$, $n=10$)

| Група тварин | Латентний період входу в темну камеру, с | |
|--|--|---|
| | до навчання | через 24 год після навчання |
| Псевдоперовані тварини + 0,9% розчин NaCl | 5,30±0,42 | 223,80±1,66 |
| ЧМТ + 0,9 % розчин NaCl (контрольна патологія) | 19,70±0,47° (+271,7%) | 48,90±0,96° (-78,2%) |
| ЧМТ + адемола, 2 мг/кг в/в | 11,00±0,28°*#• (+107,5%) [-44,7%] | 98,80±2,50°*#• (-55,7%) [+102,0%] |
| ЧМТ + амантадину сульфат, 5 мг/кг в/в | 13,70±0,35°* (+158,5%) [-30,5%] | 76,50±1,30°* (-65,7%) [+56,4%] |
| ЧМТ + магнію сульфат, 250 мг/кг в/в | 15,30±0,28°* (+188,7%) [-22,4%] | 65,0±1,04°* (-70,9%) [+32,9%] |

Примітка 1. ° – $p < 0,05$ відносно псевдоперованих тварин.

Примітка 2. * – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. # – $p < 0,05$ відносно групи амантадину сульфату (5 мг/кг в/в).

Примітка 4. • – $p < 0,05$ відносно групи магнію сульфату (250 мг/кг в/в).

Примітка 5. У круглих дужках – зміни (%) відносно показника псевдоперованих щурів, у квадратних дужках – відносно показника тварин із ЧМТ, яким вводили 0,9 % розчин NaCl (контрольна патологія).

Отримані результати, щодо летальності та корекції неврологічного дефіциту у щурів з важкою ЧМТ препаратами порівняння дають нам можливість говорити, щодо відсутності достовірної ефективності застосування магнію сульфату при експериментальній ЧМТ у щурів. Тому для подальших дослідів нами було залишено лише один препарат порівняння амантадину сульфат.

4.3 Вплив Адемолу на динаміку церебральної та центральної гемодинаміки при черепно-мозковій травмі у щурів

Серед провідних механізмів захисної (протекторної) дії деяких церебропротекторних засобів, які використовуються для лікування як ЧМТ та інших нозологій, що супроводжуються ураженням ГМ, провідне місце посідає спроможність препарату покращувати мозковий кровообіг не пригнічуючи регіонарну та центральну гемодинаміку. Більшість вазотропних нейропротекторів зі стимулювальними властивостями на мозковий кровотік (вінпоцетин, міотропні спазмолітини, магнію сульфат) поряд із розширенням церебральних судин призводять до системної гіпотензії, що в підсумку погіршує кровопостачання мозку та в подальшому знижує кінцеву ефективність ЛЗ, що застосовується з метою в першу чергу зменшити летальність та інвалідизацію. Особливо це небезпечно у хворих із ЧМТ важкого ступеня, де за глобальної субтотальної ішемії відбувається ураження нейронів судинно-рухового центру, що супроводжується гемодинамічним «обвалом» і, як наслідок, різкою редукацією мозкового кровоплину через магістральні судини [274].

У пацієнтів із середньою та важкою ЧМТ у третині випадків має місце формування цереброкардіальної дисфункції, наслідком якої є зменшення надходження крові до мозку через порушення системного кровообігу на фоні ураження ГМ, крововтрати тощо. У випадку реперфузії церебральної судини, що має місце при її рефлексорному спазмі, досить часто виникає синдром невідновленого кровообігу («no-reflow») [180].

Враховуючи важливість церебральної перфузії при ЧМТ та стабільність підтримання системної динаміки у таких хворих, а також дані про наявність у адемолу стимулювальної дії на мозковий кровоплин в умовах ішемічного або геморагічного інсульту, було доцільним дослідити його вплив на цей показник

при ЧМТ у щурів в басейні внутрішньої сонної артерії (СА) [245].

Як видно з табл. 4.10, у щурів групи контрольної патології ЧМТ значно погіршувала кровопостачання головного мозку, що мало проградієнтний характер упродовж перших 24 год спостереження. В цей період об'ємна швидкість мозкового кровообігу (ОШМК) знизилася в середньому на 60-69%. Станом на 4-ту добу ЧМТ нами зафіксовано припинення падіння досліджуваного показника на рівні майже 60% відносно фону. Це засвідчує початок розвитку адаптаційних процесів за рахунок інтенсифікації ендogenous механізмів церебропротекції (початок ангиогенезу та розкриття колатералей). Саме цими процесами можна пояснити підвищення показника ОШМК в кінці терміну спостереження відносно 4-ої доби в середньому на 15,0%, але при цьому мозковий кровоплин залишався меншим відносно вихідного стану в середньому на 46,7% (див. табл. 4.9).

Таблиця 4.9 - Динаміка кровобігу у внутрішній сонній артерії щурів із черепно-мозковою травмою на тлі курсової інфузії адемола та амантадину сульфату ($M \pm m$, $n=5$)

| Час спостереження | 0,9 % розчин NaCl (контрольна патологія) | | Адемола 2 мг/кг | | Амантадину сульфат 5 мг/кг | |
|-------------------|--|----------|-----------------|----------|----------------------------|----------|
| | мл/хв | зміни, % | мл/хв | зміни, % | мл/хв | зміни, % |
| Вихідний стан | | | | | | |
| – | 7,58±0,16 | – | 7,50±0,17 | – | 7,48±0,29 | – |
| ЧМТ | | | | | | |
| 1 год | 3,02±0,19° | –60,2 | 5,96±0,26 °*# | –20,5 | 3,56±0,22 °* | –52,4 |
| 12 год | 2,40±0,08 ° | –68,3 | 6,24±0,21 °*# | –16,8 | 3,58±0,15 °* | –52,1 |
| 24 год | 2,36±0,06 ° | –68,9 | 6,72±0,20 °*# | –10,4 | 3,76±0,20 °* | –49,7 |
| 4 доба | 2,90±0,08 ° | –61,7 | 6,92±0,15 °*# | –7,73 | 4,72±0,21 °* | –36,9 |
| 8 доба | 4,04±0,22 ° | –46,7 | 7,12±0,15 °*# | –5,1 | 5,28±0,14 °* | –29,4 |

Примітка 1. ° – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 2. * – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. # – $p < 0,05$ відносно групи амантадину сульфату.

Терапевтичне застосування щурам з ЧМТ адемолу упродовж усього посттравматичного періоду вірогідно краще впливає на покращення церебрального кровообігу в порівнянні із застосуванням розчину амантадину сульфату, а тим більше 0,9% розчину NaCl, так терапія адемолом достовірно протидіяла зниженню показника ОШМК, що вказує на покращення мозкової перфузії через басейн внутрішньої СА при важкій ЧМТ.

Так, вже на першу годину застосування адемолу можна відмітити достовірну різницю у покращенні мозкової перфузії в басейні внутрішньої СА по відношенні з контрольною групою та щурами, що отримували амантадину сульфат відповідно на: 97,3 та 67,4% ($p < 0,05$).

На 12-24 год експерименту, коли у тварин групи контрольної патології відмічалось максимальне зниження ОШМК, введення адемолу вірогідно підвищувало мозковий кровоплин у 2,6 та 2,84 рази (відповідно 12-24 год) переважаючи ефективність розчину амантадину сульфату в середньому відповідно на 74,3 та 78,7% ($p < 0,05$).

Оцінка динаміки показника ОШМК для групи щурів з важкою ЧМТ, що отримували адемом та амантадин сульфат на 4 та 8 добу свідчить про активніший початок розвитку адаптаційних процесів за рахунок інтенсифікації ендогенних механізмів церебропротекції при застосування вище вказаних церебропротекторів в порівнянні з групою контролю ($p < 0,05$). Так, порівняльний аналіз ефективності адемолу на 4 та 8 добу застосування показує достовірно кращу ефективність даного ЛЗ на динаміку ОШМК, що відображає церебральний кровообіг в порівнянні з групою контрольної патології та щурами, які отримували амантадин сульфат. Тому, 4 доба спостереження показала достовірно кращу динаміку відновлення ОШМК у групі Адемолу в порівнянні з контролем та амантадином сульфатом відповідно на: 138 та 46,6%. При цьому оцінка 8-денного застосування

адемолу вказує не тільки на кращу ефективність даного ЛЗ в порівнянні з групою контролю та амантадину сульфату відповідно на: 76,2 та 34,8% ($p < 0,05$), а й відсутність на 8 день спостереження достовірної різниці в динаміці ОШМК між групою адемолу та вихідним показником.

Так, як видно з отриманих даних динаміки церебрального кровообігу подібна за своєю спрямованістю та ступенем виразності дія в адемолу, що направлена на покращення кровообігу (показника ОШМК) в басейні внутрішньої СА спостерігалась упродовж усього експерименту.

У групі контрольної патології 8-денний період після важкої ЧМТ супроводжувався не тільки пригніченням мозкової, а й значним падінням показників центральної гемодинаміки рівнів артеріального тиску (АТ) та центрального венозного тиску (ЦВТ) (табл. 4.10 та 4.11).

Таблиця 4.10 - Динаміка артеріального тиску в стегновій артерії щурів із черепно-мозковою травмою на тлі курсової інфузії адемолу та амантадину сульфату ($M \pm m$, $n=5$)

| Час спостереження | 0,9 % розчин NaCl (контрольна патологія) | | Адемола 2 мг/кг | | Амантадину сульфат, 5 мг/кг | |
|-------------------|--|----------|-----------------|----------|-----------------------------|----------|
| | мм/рт/ст | зміни, % | мм/рт/ст | зміни, % | мм/рт/ст | зміни, % |
| Вихідний стан | | | | | | |
| – | 107,0±2,33 | – | 115,0±1,44 | – | 114,0±2,23 | – |
| ЧМТ | | | | | | |
| 1 год | 66,0±2,99° | –38,31 | 110,0±2,50*# | –4,34 | 85,0±2,50 °* | –25,4 |
| 12 год | 59,0±2,66 ° | –44,85 | 111,0±1,70*# | –3,47 | 86,0±2,66°* | –24,56 |
| 24 год | 60,0±2,50 ° | –43,90 | 114,0±2,37*# | –0,86 | 88,0±2,32 °* | –22,81 |
| 4 доба | 75,0±2,50 ° | –29,90 | 115,0±1,44*# | 0 | 90,0±2,04 °* | –21,05 |
| 8 доба | 89,0±0,91 ° | –16,82 | 115,0±1,44*# | 0 | 90,0±2,04 °* | –21,05 |

Примітка 1. ° – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 2. * – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. # – $p < 0,05$ відносно групи амантадину сульфату.

Аналізуючи динаміку АТ у групі контрольної патології на фоні ЧМТ, можна сказати, що зниження даного показника у першу добу ЧМТ було достовірно стабільним по відношенню до вихідного рівня. Так, максимальне зниження АТ (падіння в середньому на 44% відносно фону) на тлі введення тваринам із ЧМТ 0,9% розчину NaCl мали місце в період з 12 по 24 год модельованої патології. На 4 та 8 добу спостереження за досліджуваним показником показало динаміку відновлення рівня АТ по відношенню до вихідного рівня, але все ж таки навіть на 8 добу рівень АТ залишався достовірно нижчим у групі контрольної патології на 16,82%, а ніж у псевдооперованих тварин.

Аналізуючи вплив застосування адемолу та амантадину сульфату на динаміку рівня АТ, як одного з показників системної гемодинаміки, можна стверджувати, що ефективність адемолу є достовірно кращою, ніж відповідна терапія ЧМТ амантадином сульфату. При цьому терапія церебральної травми обома досліджуваними препаратами достовірно перешкоджала стрімкому падінню АТ.

Так, на противагу розчину амантадину сульфату, введення щурам адемолу умовно-ефективною дозою 2 мг/кг в/в виявилось вірогідно ефективнішим і сприяло стабілізації рівня АТ у межах фонових значень упродовж усього терміну спостереження, а з 4 доби рівень АТ у групі з адемолом не відрізнявся від групи псевдооперованих тварин (вихідного рівня). В групі щурів з амантадином сульфатом спостерігалось відносно стабільне зниження рівня АТ протягом усього терміну спостереження з 1 по 8 добу і був зниженим в межах 21-25% відносно вихідного рівня, та на 27-29% зниженим відносно групи з адемолом.

Аналіз динаміки рівня ЦВТ у щурів групи контрольної патології показав, що поряд із падінням АТ має місце зниження припливу крові до правих відділів серця (табл. 4.11), що може бути пов'язаним як з порушенням центральної регуляції системної так і церебральної гемодинаміки. Аналіз отриманих даних щодо

зниження ЦВТ у щурів групи контрольної патології показує схожу максимальну динаміку зниження досліджуваного показника на 30,58 та 34,04% відносно вихідного рівня на 12 та 24 годину спостереження, що корелює з динамікою летальності та неврологічним дефіцитом. При цьому, оцінка досліджуваного показника ЦВТ показує тенденцію до стабілізації рівня системної гемодинаміки на 4 та 8 добу спостереження, але рівень ЦВТ на 26,06 та 20,2% залишається достовірно нижчим в порівнянні з вихідним рівнем.

Таблиця 4.11 - Динаміка центрального венозного тиску у нижній порожнистій вені щурів із черепно-мозковою травмою на тлі курсової інфузії адемоу та амантадину сульфату ($M \pm m$, $n=5$)

| Час спостереження | 0,9 % розчин NaCl (контрольна патологія) | | Адемоу 2 мг/кг | | Амантадину сульфат, 5 мг/кг | |
|-------------------|--|----------|----------------|----------|-----------------------------|----------|
| | мм/рт/ст | зміни, % | мм/рт/ст | зміни, % | мм/рт/ст | зміни, % |
| Вихідний стан | | | | | | |
| – | 75,2±1,06 | – | 74,2±2,92 | – | 74,6±2,05 | – |
| ЧМТ | | | | | | |
| 1 год | 58,8±2,24° | –21,8 | 72,4±2,82*# | –2,42 | 69,0±1,58 °* | –7,51 |
| 12 год | 52,2±0,79 ° | –30,58 | 73,0±2,90*# | –1,61 | 68,8±2,39°* | –7,77 |
| 24 год | 49,6±0,89 ° | –34,04 | 73,8±2,99*# | –0,54 | 69,0±2,06 °* | –7,51 |
| 4 доба | 55,6±1,97 ° | –26,06 | 73,8±2,90*# | –0,54 | 69,6±1,86 °* | –6,70 |
| 8 доба | 60,0±1,35 ° | –20,2 | 73,8±2,72*# | –0,54 | 70,0±1,89 °* | –6,16 |

Примітка 1. ° – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 2. * – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. # – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату.

Терапія модельної ЧМТ блокаторами NMDA-рецепторів сприяла стабілізації ЦВТ, хоча на тлі адемоу, на відміну від амантадину сульфату, досліджуваний показник у жодному періоді експерименту вірогідно не відрізнявся від фонових

значень. На відміну від групи амантадину сульфату, що мала достовірно кращі показники рівня ЦВТ в порівнянні з групою контролю, але при цьому ж рівень досліджуваного показника був достовірно нижчим по відношенню до групи адемолу у всі терміни спостереження ($p < 0,05$).

Таким чином, курсова лікувальна терапія щурів із ЧМТ важкого ступеня розчином адемолу, умовно-ефективною дозою 2 мг/кг в/в, вірогідно краще амантадину сульфату 5 мг/кг в/в сприяє підтриманню мозкового кровотоку на рівні максимально наближеному до вихідного, а також перешкоджає падінню основних показників, що характеризують сталість центральної гемодинаміки (АТ та ЦВТ).

На нашу думку саме помірними вазопресорними або ж ендотеліопротекторними властивостями адемолу обумовлена сталість рівнів АТ та ЦВД, що в свою чергу забезпечує сталість кровотоку по СА. Слід підкреслити, що у жодному випадку, ми не відмічали навіть короткотривалий підйом АТ вище фонових значень на тлі застосуванні адемолу дозою 2 мг/кг в/в.

Отже, у ході проведеного скринінгу умовно-ефективної церебропротективної дози адемолу, дію якого вивчали в різному діапазоні доз (1, 2 та 4 мг/кг в/в), нами було встановлено, що поміж інших досліджуваних препаратів, яким притаманна блокувальна дія на NMDA-рецептори (амантадину та магнію сульфат), найбільшу захисну дію на головний мозок проявив саме адемолу 2 мг/кг, вірогідно перевершуючи референс-препарати упродовж перших 8 діб ЧМТ.

Курсова інфузія шурам з модельною ЧМТ адемолу умовно-ефективною церебропротективною дозою 2 мг/кг двічі на добу з інтервалом 12 год і тривалістю введення 2 год, ліпше за розчини амантадину та магнію сульфат сприяла зменшенню виразності неврологічних порушень, що супроводжувалося покращенням мнестичних функцій у тварин на 8-му добу терапії травми.

Використання аналогічної за дизайном схеми введення адемолу, вірогідно

краще амантадину сульфату сприяла підтриманню мозкового кровотоку на рівні максимально наближеному до вихідного, а також перешкоджала падінню основних показників, які характеризують сталість центральної гемодинаміки (АТ та ЦВТ).

Отримані дані дають змогу зробити висновок про наявність у адемолу виразних церебротекторних властивостей саме дозою 2 мг/кг в/в без розвитку побічних реакцій з боку ЦНС, які характерні для блокаторів фенциклідинового ряду NMDA-рецепторів (судоми, пригнічення когнітивно-мнестичних функцій). Це, на нашу думку, забезпечується особливістю його фармакокінетичних характеристик, які повною мірою розкриваються саме при запропонованій схемі його застосування (повільна в/в краплинна інфузія за допомогою інфузоматної системи).

Одним із патогенетичних механізмів його захисної дії при ЧМТ є спроможність адемолу підтримувати достатній рівень кровопостачання головного мозку за рахунок нівелювання проявів системної гіпотензії при важкій церебральній травмі.

Перелік публікацій, в яких висвітлено основні матеріали даного розділу:
[101, 131, 162, 282, 327, 435, 436, 437, 445]

РОЗДІЛ 5

ВИВЧЕННЯ ПАТОГЕНЕТИЧНИХ ТА БІОХІМІЧНИХ МЕХАНІЗМІВ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ АДЕМОЛУ НА ТЛІ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ

5.1 Вплив курсового введення адемолу на формування стероїдної нейротоксичності за рівнем кортизолу в умовах модельної черепно-мозкової травми

Однією із клітинних мішеней для патогенетичного впливу на перебіг ЧМТ є використання фармакологічних агентів, які здатні протидіяти негативному впливу надлишкових концентрацій глюкокортикоїдів (глюкокортикоїдна нейротоксичність) на нейрони головного мозку при цереброваскулярній патології. Високі рівні глюкокортикостероїдів в ЦНС, які зберігаються тривалий час, призводять до когнітивних порушень, відіграють важливу роль у розвитку деменції та інших деструктивно-дегенеративних захворювань [78]. Саме тому одним із можливих шляхів реалізації патогенетичних засад нейропротекції при мозковій травмі може бути зменшення проявів глюкокортикоїдної ексайтотоксичності.

В літературі [279] добре описані стрес- та актопротекторні ефекти адемолу. Зважаючи на це було доцільним охарактеризувати вплив адемолу на рівень кортизолу, як одного із маркерів стероїдної нейротоксичності при модельній ЧМТ. Тому метою цього підрозділу було оцінити рівень кортизолу у тварин з ЧМТ та його зміни на тлі фармакотерапії адемолом та амантадину сульфату.

Дослідження концентрації кортизолу у щурів в умовах ЧМТ показав, що на 8-му добу після моделювання патології його рівень вірогідно підвищився (табл. 5.1). Так, в групі псевдооперованих щурів вміст кортизолу в крові сагітального синусу головного мозку коливався в межах $84,3 \pm 6,80$ нг/мл (P₅-P₉₅). Натомість, у тварин з ЧМТ рівень цього глюкокортикоїду був вищим в 5,65 разів і знаходився в

діапазоні $477 \pm 16,0$ нг/мл (P_5 - P_{95}). Отримані результати підтверджують формування глюкокортикоїдної ексайтотоксичності за ЧМТ. Підвищення рівня нейроглюкокортикоїдів має морфогенетичний вплив на функціонування та диференціацію клітин головного мозку [418]. Патогенетично, з високим рівнем кортизолу в умовах гострої церебральної ішемії корелює зменшення щільності пірамідних нейронів зони CA1 гіпокампу, нейроапоптоз, погіршення неврологічного статусу, розвиток церебральної коми, порушення здатності до запам'ятовування та значна летальність.

Таблиця 5.1 - Вплив курсової 8-ми денної інфузії адемолу та амантадин сульфату на концентрацію кортизолу в крові сагітального синуса головного мозку щурів із черепно-мозковою травмою ($M \pm m$, $n=5$)

| Групи тварин | Кортизол (нг/мл) |
|--|--------------------------|
| Псевдоперовані тварини + 0,9% розчин NaCl | $84,3 \pm 6,80$ |
| ЧМТ + 0,9 % розчин NaCl (контрольна патологія) | $477 \pm 16,0^{\circ}$ |
| ЧМТ + адемола, 2 мг/кг в/в | $185 \pm 1,53^{\circ\#}$ |
| ЧМТ +амантадину сульфат, 5 мг/кг в/в | $276 \pm 1,35^{\circ*}$ |

Примітка 1. $^{\circ}$ – $p < 0,05$ відносно псевдоперованих тварин.

Примітка 2. $*$ – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. $\#$ – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату (10 мг/кг в/в).

Застосована фармакотерапія попереджувала наростання рівня кортизолу в крові у тварин з ЧМТ, однак її ефективність залежала від обраного препарату. У щурів, які отримували адемола (2 мг/кг в/в) рівень кортизолу в крові коливався в межах $185 \pm 1,53$ нг/мл (P_5 - P_{95}) і був меншим в 2,58 рази ($p < 0,05$), порівняно з групою контрольної патології. Натомість ефект амантадину сульфату (10 мг/кг в/в) на рівень кортизолу в крові сагітального синуса був вірогідно меншим, ніж у адемолу. За цих умов концентрація кортизолу в крові знаходилась в діапазоні $276 \pm 1,35$ нг/мл (P_5 - P_{95}), була меншою в 1,73 рази ($p < 0,05$), порівняно з групою

контрольної патології, і на 49,2% ($p < 0,05$) перевищувала відповідний показник у тварин, лікованих адемолом.

Отримані результати засвідчують наявність у адемолу та в меншій мірі амантадину сульфату коригувального впливу на баланс стероїдів в ЦНС. Антистероїдний ефект адемолу є важливим чинником, який забезпечує його здатність перешкоджати розвитку деструктивних змін в пошкодженому мозку та сприяти збереженню морфо-функціональної активності нейроцитів, що знайшло своє підтвердження й у інших розділах роботи.

5.2 Вплив курсового введення адемолу на пул аденілових нуклеотидів та інтермедіатів вуглеводного обміну в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою

Порушення енергетичного обміну в травматичнопошкоджених нейронах є одним з основних патогенетичних механізмів розвитку нейродеструктивних змін при ЧМТ. Тому, доцільним було оцінити стан енергетичного метаболізму в тканинах мозку щурів за ЧМТ й на тлі курсової 8-ми денної інфузійної терапії адемолом та амантадин сульфатом(референс-препарат).

Результати проведеного дослідження засвідчили, що у тварин групи контрольної патології відмічаються порушення енергетичного обміну в тканинах головного мозку та розвивається гіпоенергетичний стан (табл. 5.2). У псевдооперованих щурів в тканинах мозку рівень АТФ знаходився в діапазоні $3,13 \pm 0,49$ мкмоль/г сухої тканини, вміст АДФ – $0,957 \pm 0,018$ мкмоль/г сухої тканини, концентрація АМФ – $0,667 \pm 0,022$ мкмоль/г сухої тканини, а енергетичний заряд $0,767 \pm 0,006$ (P_5 - P_{95}). В той же час у нелікованих тварин з ЧМТ рівень АТФ в мозку був меншим на 47,1% ($p < 0,05$), порівняно з псевдооперованими тваринами, і коливався в межах $1,66 \pm 0,07$ мкмоль/г сухої тканини (P_5 - P_{95}). За цих умов вміст АДФ та АМФ перевищував показники псевдооперованих тварин на 130 та 58,9% ($p < 0,05$), і змінювався відповідно в

межах $2,20 \pm 0,07$ мкмоль/г сухої тканини та $1,06 \pm 0,03$ мкмоль/г сухої тканини (P_5 - P_{95}). Поряд з цим за ЧМТ змінювалось співвідношення між аденіловими нуклеотидами, про що свідчило вірогідне падіння енергетичного заряду на 73,0 % ($p < 0,05$). Так, у псевдооперованих тварин енергетичний заряд змінювався в межах $0,767 \pm 0,006$, а у тварин групи контрольної патології був у діапазоні $0,560 \pm 0,006$ (P_5 - P_{95}).

Таблиця 5.2 - Вплив курсової 8-ми денної інфузії Адемолу та амантадину сульфату на вміст аденілових нуклеотидів у головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою ($M \pm m$, $n=7$)

| Групи тварин | Показники | | | |
|--|--------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|
| | АТФ, мкмоль/г сухої тканини | АДФ, мкмоль/г сухої тканини | АМФ, мкмоль/г сухої тканини | Енергетичний заряд |
| Псевдоперовані тварини + 0,9% розчин NaCl | $3,13 \pm 0,49$ | $0,957 \pm 0,018$ | $0,667 \pm 0,022$ | $0,767 \pm 0,006$ |
| ЧМТ + 0,9 % розчин NaCl (контрольна патологія) | $1,66 \pm 0,07^\circ$ | $2,20 \pm 0,07^\circ$ | $1,06 \pm 0,03^\circ$ | $0,560 \pm 0,006^\circ$ |
| ЧМТ + адемол, 2 мг/кг в/в | $3,10 \pm 0,12^{*\#}$ | $0,943 \pm 0,012^{*\#}$ | $0,639 \pm 0,032^{*\#}$ | $0,763 \pm 0,004^{*\#}$ |
| ЧМТ + амантадину сульфат, 5 мг/кг в/в | $2,52 \pm 0,11^{*\circ}$ | $1,40 \pm 0,04^{*\circ}$ | $0,737 \pm 0,014^{*\circ}$ | $0,691 \pm 0,006^{*\circ}$ |

Примітка 1. $^\circ$ – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 2. $*$ – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. $\#$ – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату (10 мг/кг в/в).

Отримані результати підтверджують формування гіпоенергетичного стану в

клітинах головного мозку щурів на тлі ЧМТ, що ймовірно є наслідком пригнічення процесів окисного фосфорилування та його супряження з тканинним диханням.

Застосування досліджуваних препаратів стримувало формування енергодефіцитного стану в головному мозку в умовах експерименту, покращувало процес окисного фосфорилування та його супряження з тканинним диханням, однак виразність їх ефектів суттєво відрізнялась (табл. 5.2). Встановлено, що курсове введення адемолу в найбільшій мірі попереджувало пертурбації в метаболізмі аденілових нуклеотидів. За цих умов рівень АТФ в мозку та енергетичний заряд були на 85,3 та 36,3% ($p < 0,05$) вищими, порівняно з псевдооперованими тваринами, і коливались в діапазоні $3,10 \pm 0,12$ мкмоль/г сухої тканини (P_5 - P_{95}) та $0,763 \pm 0,004$, відповідно. Рівні АДФ і АМФ в мозку були меншими на 57,1 та 39,7% ($p < 0,05$), порівняно з псевдооперованими тваринами, та змінювались в межах $0,943 \pm 0,012$ та $0,639 \pm 0,032$ мкмоль/г сухої тканини (P_5 - P_{95}), відповідно. За ефективністю коригувати енергетичний обмін в мозку щурів референс-препарат амантадин сульфат значно поступався адемолу. В групі тварин, лікованих амантадином, вміст АТФ та енергетичний заряд були на 52,4 та 23,4% ($p < 0,05$) вищими, порівняно з псевдооперованими тваринами, і змінювались в діапазоні $2,52 \pm 0,11$ мкмоль/г сухої тканини (P_5 - P_{95}) та $0,691 \pm 0,006$, відповідно. За цих умов концентрації АДФ і АМФ в мозку були меншими на 36,6 та 30,5% ($p < 0,05$), порівняно з псевдооперованими тваринами, та змінювались в межах $1,40 \pm 0,04$ та $0,737 \pm 0,014$ мкмоль/г сухої тканини (P_5 - P_{95}), відповідно.

За результатами численних експериментальних досліджень [88] показано, що формування дефіциту АТФ та надлишку ди- та три фосфатів нуклеозидів в структурах головного мозку за ЧМТ спричиняє активацію регуляторних ферментів анаеробного гліколізу за алостеричним механізмом. Гіперактивація гліколізу супроводжується посиленою продукцією молочної кислоти, розвитком метаболічного ацидозу, що поглиблює альтерацію клітин головного мозку за

ЧМТ.

Результати наших досліджень підтверджують той факт, що ЧМТ супроводжується активацією анаеробного гліколізу та пригніченням аеробного окиснення глюкози, доказом чого є виникнення дисбалансу між рівнем інтермедіатів лактатом та піруватом (табл. 5.3). У псевдооперованих тварин рівень лактату змінюється в межах $1,82 \pm 0,05$ мкмоль/г сухої тканини (P₅-P₉₅), пірувату – у діапазоні $0,347 \pm 0,025$ мкмоль/г сухої тканини (P₅-P₉₅), а співвідношення лактат / піруват знаходиться в діапазоні $5,45 \pm 0,45$. Натомість, у щурів з ЧМТ групи контролю відмічається статистично вірогідне зростання рівня лактату в 3,58 рази (знаходиться в діапазоні $7,02 \pm 0,14$ мкмоль/г сухої тканини), зниження вмісту пірувату на 56,2 % (коливається в межах $0,152 \pm 0,008$ мкмоль/г сухої тканини) та збільшення співвідношення лактат / піруват у 8,64 рази (в межах $47,1 \pm 2,94$), порівняно з псевдооперованими тваринами.

Застосування досліджуваних церебропротекторів, особливо адемолу, зменшувало активність анаеробного гліколізу, сприяло активації аеробного окиснення глюкози та зменшувало ознаки лактат-ацидозу в клітинах головного мозку за ЧМТ (табл. 5.3). Показано, що застосування адемолу досить ефективно стримувало порушення аеробного окиснення глюкози на тлі ЧМТ. За цих умов рівень лактату був меншим у 2,7 рази (коливався в межах $2,60 \pm 0,08$ мкмоль/г сухої тканини), концентрація пірувату була більшою на 111 % (змінювалась в діапазоні $0,321 \pm 0,009$ мкмоль/г сухої тканини), а співвідношення лактат / піруват було меншим в 5,8 рази (перебувало в межах $8,13 \pm 0,24$), порівняно з відповідними показниками в групі нелікованих тварин з ЧМТ. Використання амантадину сульфату менш ефективно, ніж адемолу, впливало на процеси аеробного метаболізму вуглеводів. В групі тварин, яким проводили 8-ми денну інфузію амантадину реєструвалось вірогідне зменшення вмісту молочної кислоти в 2,1 рази (її рівень коливався в межах $3,42 \pm 0,24$ мкмоль/г сухої тканини), зростання рівня пірувату на 109% (знаходився в діапазоні $0,317 \pm 0,012$ мкмоль/г сухої

тканини) та зниження співвідношення лактат / піруват у 4,3 рази (в межах $10,9 \pm 0,84$), порівняно з показниками у тварин групи контрольної патології.

Таблиця 5.3 - Вплив курсової 8-ми денної інфузії адемолу та амантадину сульфату на вміст метаболітів глюкози в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою ($M \pm m$, $n=7$)

| Групи тварин | Показники | | |
|---|--|---|-----------------------------|
| | Лактат, мкмоль / г сухої тканини | Піруват, мкмоль / г сухої тканини | Лактат/Піруват |
| Псевдоперовані тварини + 0,9% розчин NaCl | $1,82 \pm 0,05$ | $0,347 \pm 0,025$ | $5,45 \pm 0,45$ |
| ЧМТ + 0,9 % розчин NaCl (контрольна патологія) | $7,02 \pm 0,14^{\circ}$ | $0,152 \pm 0,008^{\circ}$ | $47,1 \pm 2,94^{\circ}$ |
| ЧМТ + адемол, 2 мг/кг в/в | $2,60 \pm 0,08^{\circ* \#}$ | $0,321 \pm 0,009^*$ | $8,13 \pm 0,24^{\circ* \#}$ |
| ЧМТ + амантадину сульфат, 5 мг/кг в/в | $3,42 \pm 0,24^{\circ*}$ | $0,317 \pm 0,012^{\circ*}$ | $10,9 \pm 0,84^{\circ*}$ |

Примітка 1. $^{\circ}$ – $p < 0,05$ відносно псевдоперованих тварин.

Примітка 2. $*$ – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. $\#$ – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату (10 мг/кг в/в).

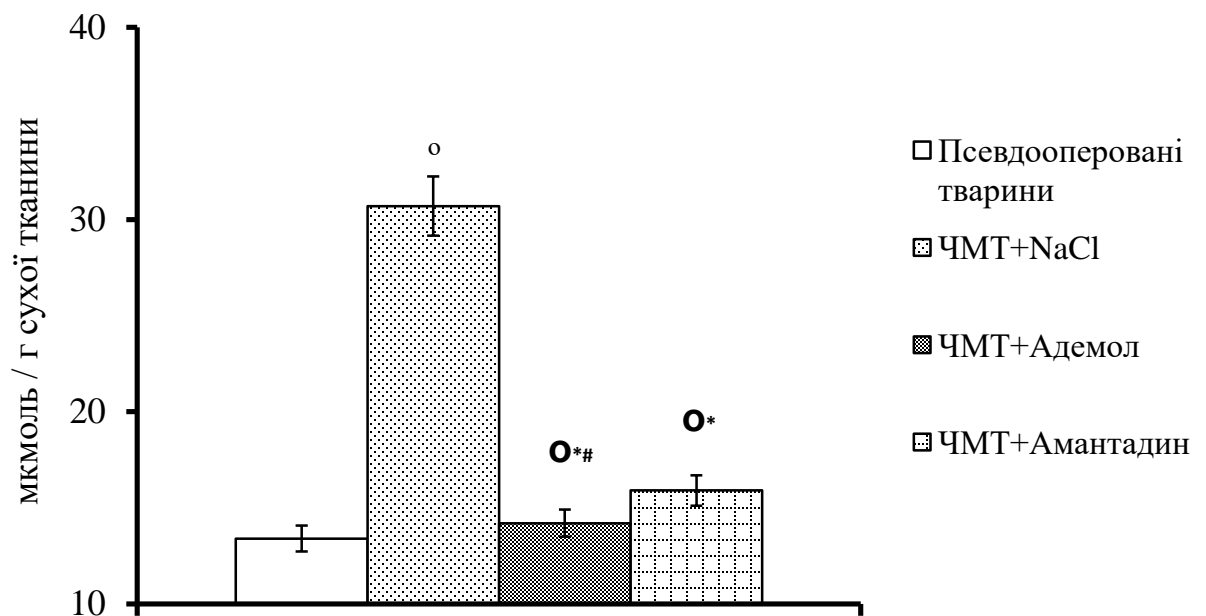
Отримані дані свідчать, що 8-ми денна інфузія щурам із черепно-мозковою травмою розчину адемолу в умовно-ефективній церебропротекторній дозі (2 мг/кг в/в) більш ефективно, ніж застосування амантадину сульфату (5 мг/кг в/в), стримувало гіперактивацію анаеробного гліколізу, стимулювало процеси тканинного дихання, зменшувало ознаки лактат-ацидозу та розвиток вторинної альтерації клітин головного мозку недоокисненими продуктами. Отже, серед молекулярних механізмів церебропротекторної активності адемолу слід виділити його здатність зменшувати енергодефіцит та покращувати аеробний метаболізм глюкози в клітинах головного мозку щурів на тлі черепно-мозкової травми.

5.3 Порівняльна оцінка впливу курсового введення адемолу та амантадину сульфату на перебіг процесів оксидативного стресу в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою

Аналіз літературних джерел [211, 348] вказує на те, що при ЧМТ реєструється гіперпродукція активних форм кисню тканинами головного мозку, що активує розвиток у його структурах процесів оксидативного та нітрозативного стресу білків, ліпідів та нуклеїнових кислот нейронів, порушує афінність та специфічність рецепторів, генерацію потенціалів дії та провідність нервового імпульсу. Тому, поряд із корекцією енергетичного дисбалансу, ліквідацією проявів метаболічного ацидозу, важливим заходом інтенсивної терапії хворих із ЧМТ є використання протиішемічних препаратів із антиоксидантними властивостями. На сьогодні чітко встановлено, що протекторна дія адемолу на нейрони мозку при інсульті до певної міри обумовлена притаманними йому антиоксидантними властивостями. Саме тому доцільно було з'ясувати вплив адемолу на перебіг процесів оксидативного стресу при ЧМТ.

Встановлено, що за умов експериментальної ЧМТ в структурах головного мозку щурів реєструється гіперактивація вільнорадикального окиснення ліпідів біомембран (рис. 5.1). В групі псевдооперованих тварин медіана вмісту вторинного метаболіту ліпопероксидації малонового діальдегіду (МДА) в мозку становить 13,2 (95% ДІ 12,8-14,2) мкмоль/г сухої тканини, а персентильний інтервал P_{25} - P_{75} – 13,1-14,0 мкмоль/г сухої тканини. В той же час, у тварин групи контрольної патології цей показник в 2,28 рази ($p < 0,05$) перевищує такий у псевдооперованих тварин, його медіана дорівнює 30,8 (95% ДІ 28,6-33,3) мкмоль/г сухої тканини, а персентильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходиться в межах 29,4-31,8 мкмоль/г сухої тканини. Застосування досліджуваних препаратів в різній мірі стримує активацію процесів перекисного окиснення ліпідів в тканинах мозку. Найбільш активним препаратом, який попереджував окисну деградацію ліпідів був адемомол. В групі тварин, лікованих цим препаратом, вміст МДА в мозку був

меншим на 58,3 % ($p < 0,05$), ніж у тварин групи контрольної патології, медіана становила 14,6 (95% ДІ 12,6-15,5) мкмоль/г сухої тканини, а персентильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ – 13,4-15,1 мкмоль/г сухої тканини. За здатністю стримувати пероксидацію ліпідів амантадин сульфат поступався адемолу. У тварин, яким застосовували амантадин вміст МДА в мозку був меншим на 48,4 % ($p < 0,05$), ніж у тварин групи контрольної патології, медіана становила 16,1 (95% ДІ 14,9-16,7) мкмоль/г сухої тканини, а персентильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ – 15,5-16,3 мкмоль/г сухої тканини.



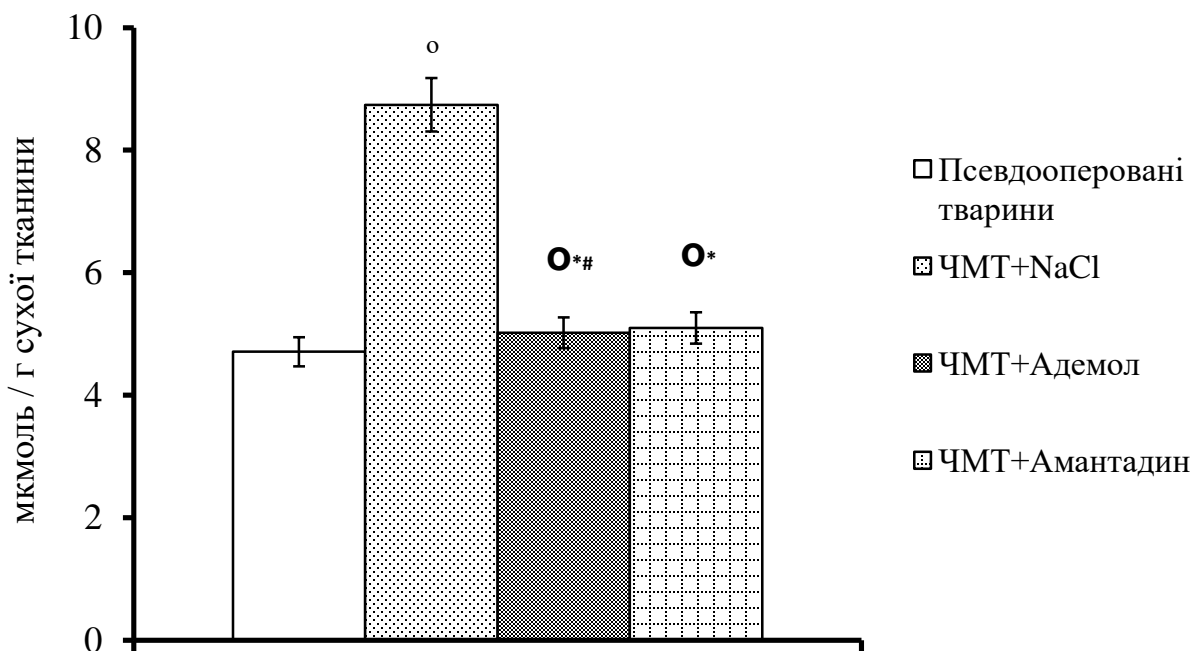
Примітка 1. o – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 2. * – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. # – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату (5 мг/кг в/в).

Рис. 5.1. Вплив курсової 8-ми денної інфузії адемола та амантадину сульфату на вміст продуктів пероксидації ліпідів у головному мозку щурів із ЧМТ ($M \pm m$, $n=7$).

Розвиток черепно-мозкової травми асоціюється з активацією окисної модифікації протеїнів (рис. 5.2).



Примітка 1. ° – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 2. * – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. # – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату (5 мг/кг в/в).

Рис. 5.2. Вплив курсової 8-ми денної інфузії адемола та амантадину сульфату на вміст продуктів пероксидації протеїнів у головному мозку щурів із ЧМТ ($M \pm m$, $n=7$).

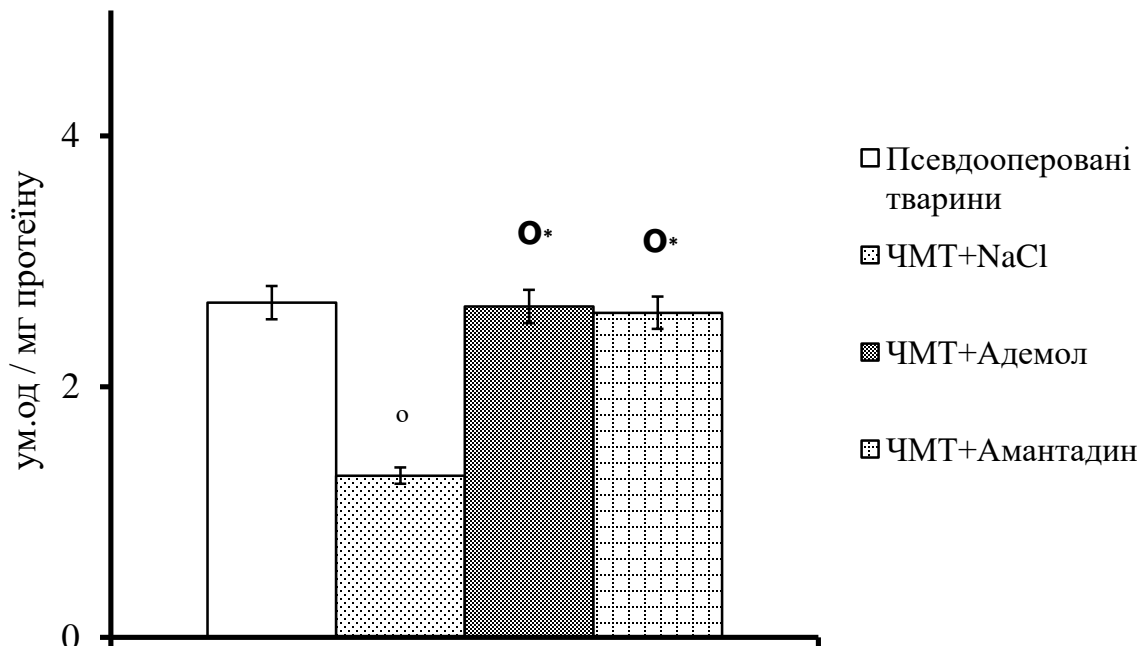
У псевдооперованих тварин медіана вмісту карбонільних груп протеїнів (КГП) в мозку становить 4,73 (95% ДІ 4,29-5,01) мкмоль/г сухої тканини, а персентильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ – 4,57-4,94 мкмоль/г сухої тканини. Натомість, за ЧМТ рівень карбонільованих білків в 1,77 рази ($p < 0,05$) перевищував такий у псевдооперованих тварин, його медіана дорівнювала 8,66 (95% ДІ 7,89-9,67) мкмоль/г сухої тканини, а персентильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився в межах 8,17-9,28 мкмоль/г сухої тканини. Застосування досліджуваних препаратів в різній мірі стримує активацію процесів окисної деградації білків в тканинах мозку. Найбільш активним препаратом, який попереджував накопичення карбонільованих протеїнів був адемола. В групі тварин, лікованих адемолом, вміст КГП в мозку був меншим

на 40,1 % ($p < 0,05$), ніж у тварин групи контрольної патології, медіана становила 4,90 (95% ДІ 4,62-5,54) мкмоль/г сухої тканини, а персентильний інтервал P_{25} - P_{75} – 4,73-5,30 мкмоль/г сухої тканини. Амантадин дещо поступався адемолу за цим ефектом. У тварин, яким застосовували амантадин вміст КГП в мозку був меншим на 39,1% ($p < 0,05$), ніж у тварин групи контрольної патології, медіана становила 4,99 (95% ДІ 4,65-5,59) мкмоль/г сухої тканини, а персентильний інтервал P_{25} - P_{75} – 4,83-5,39 мкмоль/г сухої тканини.

Таким чином, застосування адемолу на тлі ЧМТ попереджує гіперактивацію процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів біомембран клітин головного мозку, що є одним із важливих механізмів реалізації церебропротекторної активності цього препарату.

Гіперактивація перекисного окиснення ліпідів та протеїнів за умов ЧМТ відбувається на тлі зниження швидкості інактивації супероксидного аніон-радикалу (рис. 5.3). Встановлено, що медіана активності реакції дисмутації супероксиду за участі СОД в мозку псевдооперованих тварин становить 2,67 (95% ДІ 2,23-3,05) ум.од / мг протеїну, а P_{25} - P_{75} – 2,50-2,87 ум.од / мг протеїну. В той же час, за ЧМТ реєструється вірогідне зменшення активності СОД в мозку на 51,7% ($p < 0,05$), медіана активності цього ензиму дорівнює 1,31 (95% ДІ 0,97-1,57) ум.од / мг протеїну, а P_{25} - P_{75} – 1,22-1,40 ум.од / мг протеїну.

Застосована фармакотерапія, а особливо введення адемолу, попереджувала падіння швидкості реакції дисмутації супероксид-аніон радикалу в мозку тварин з ЧМТ (рис. 5.3). В групі щурів, яким використовували адемолу, активність СОД в мозку на 105% перевищувала показник групи контрольної патології, медіана її активності дорівнювала 2,69 (95% ДІ 2,17-3,16) ум.од / мг протеїну, а P_{25} - P_{75} – 2,25-2,97 ум.од / мг протеїну. За вказаним ефектом амантадин сульфат дещо поступався адемолу. У тварин, яким застосовували амантадин, активність СОД в мозку була менше на 101%, медіана її активності дорівнювала 2,53 (95% ДІ 2,09-3,11) ум.од / мг протеїну, а P_{25} - P_{75} – 2,28-2,92 ум.од / мг протеїну.



Примітка 1. ^o – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин.

Примітка 2. ^{*} – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Рис. 5.3. Вплив курсової 8-ми денної інфузії адемола та амантадину сульфату на активність СОД у головному мозку щурів із ЧМТ ($M \pm m$, $n=7$).

ЧМТ супроводжується не лише порушенням дисмутації супероксидного аніону в клітинах мозку, а й пригніченням інактивації гідроген пероксиду за участі ферментів ГПО та каталази (табл. 5.4). В групі псевдооперованих тварин активність ГПО змінюється в межах $72,7 \pm 1,37$ мкмоль / хв на 1 мг протеїну, а активність каталази – в діапазоні $6,82 \pm 0,26$ мккатал / мг протеїну. Натомість, розвиток ЧМТ спричиняє вірогідне зменшення в мозку активності ГПО на 44,7 % (її активність коливається в межах $40,2 \pm 2,30$ мкмоль / хв на 1 мг протеїну) та каталази на 46,9 % (її активність коливається в межах $3,62 \pm 0,17$ мккатал / мг протеїну).

Фармакотерапія досліджуваними препаратами стримувала падіння активності антиоксидантних ензимів ГПО та каталази в структурах головного мозку, причому найбільша ефективність виявилась у адемола (табл. 5.4). В групі

тварин з черепно-мозковою травмою, лікованих адемолом, активність ГПО в тканинах мозку була більшою на 70,9 % (коливалась в межах $68,7 \pm 0,99$ мкмоль / хв на 1 мг протеїну), а активність каталази – на 89,5 % (змінювалась в межах $6,86 \pm 0,16$ мккатал / мг протеїну), ніж показники в групі контрольної патології. У тварин, яким вводили амантадин сульфат, активність ГПО в тканинах мозку виявилась більшою на 44,5 % (коливалась в межах $58,1 \pm 0,84$ мкмоль / хв на 1 мг протеїну), а активність каталази – на 79,0 % (змінювалась в межах $6,48 \pm 0,08$ мккатал / мг протеїну), ніж відповідні показники в групі контрольної патології.

Таблиця 5.4 - Вплив курсової 8-ми денної інфузії адемолу та амантадину сульфату на активність антиоксидантних ензимів у головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою ($M \pm m$, $n=7$)

| Групи тварин | Активність ферментів | |
|---|---|------------------------------------|
| | ГПО, мкмоль / хв на 1 мг протеїну | Каталаза, мккатал / мг протеїну |
| Псевдоперовані тварини + 0,9% розчин NaCl | $72,7 \pm 1,37$ | $6,82 \pm 0,26$ |
| ЧМТ + 0,9 % розчин NaCl (контрольна патологія) | $40,2 \pm 2,30^{\circ}$ | $3,62 \pm 0,17^{\circ}$ |
| ЧМТ + адемолом, 2 мг/кг в/в | $68,7 \pm 0,99^{\circ* \#}$ | $6,86 \pm 0,16^{\circ* \#}$ |
| ЧМТ + амантадину сульфат, 5 мг/кг в/в | $58,1 \pm 0,84^{\circ*}$ | $6,48 \pm 0,08^{\circ*}$ |

Примітка 1. $^{\circ}$ – $p < 0,05$ відносно псевдоперованих тварин.

Примітка 2. $*$ – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. $\#$ – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату (5 мг/кг в/в).

За результатами проведених досліджень нами показано, що застосування адемолу на тлі ЧМТ стримує падіння активності ферментативної антиоксидантної ланки, попереджує накопичення активних кисневих інтермедіатів та сповільнює перебіг реакцій вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів в структурах

головного мозку щурів.

5.4 Дослідження впливу курсової інфузії адемолу на обмін монооксиду азоту в головному мозку щурів у головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою

Одним із провідних молекулярних механізмів нейроцитопротекторної дії сучасних фармакологічних препаратів є їх коригувальний вплив на обмін NO, зокрема на розвиток в тканинах головного мозку нітрозативного стресу. Тому доцільним було дослідити вплив адемолу на стан системи монооксиду азоту в головному мозку щурів при ЧМТ. Підґрунтям та поштовхом для вивчення такого впливу адемолу за ЧМТ було виявлення у нього здатності пригнічувати розвиток нітрозативного стресу при інсульті.

Експериментальне модулювання травматичного ураження головного мозку супроводжувалось розвитком в його структурах пертурбацій в системі L-аргінін / NO-синтаза (табл. 5.5). У псевдооперованих тварин вміст L-аргініну коливався в діапазоні $60,8 \pm 0,90$ нмоль / мг протеїну, а сумарна активність NO-синтази – $123 \pm 3,28$ пмоль / хв на 1 мг протеїну. Станом на 8 добу ЧМТ реєструвалось зниження запасів L-аргініну на 54,4% ($p < 0,05$) та зростання сумарної активності NO-синтази в головному мозку щурів на 46,8% ($p < 0,05$) порівняно з псевдооперованими тваринами. За цих умов рівень L-аргініну в мозку коливався в межах $27,7 \pm 0,79$ нмоль / мг протеїну, а сумарна активність NO-синтази була в межах $180 \pm 2,78$ пмоль / хв на 1 мг протеїну. Гіперпродукція NO за умов ЧМТ ймовірно є наслідком активації індукцибельної NOS, експресія якої зростає на тлі стероїдної нейротоксичності та реактивного запалення.

Використання досліджуваних препаратів на тлі ЧМТ попереджує виснаження в мозку запасів амінокислоти L-аргініну та гіперактивацію NO-синтази, причому за вказаним ефектом адемомол значно випереджав амантадин сульфат (табл. 5.5). В групі тварин з ЧМТ, яким застосовували адемомол вміст L-аргініну в мозку був більшим на 112% ($p < 0,05$), ніж в групі контрольної патології,

і коливався в межах $58,8 \pm 0,73$ нмоль / мг протеїну (P_5 - P_{95}). За цих умов сумарна активність NO-синтази в мозку була меншою на 26,6 % ($p < 0,05$), відносно нелікованих тварин з ЧМТ, і знаходилась в діапазоні $132 \pm 1,65$ пмоль / хв на 1 мг протеїну (P_5 - P_{95}). Натомість, у тварин, лікованих амантадином, рівень L-аргініну в мозку був більшим на 72,0% ($p < 0,05$), ніж в групі контрольної патології, і коливався в межах $47,7 \pm 0,86$ нмоль / мг протеїну (P_5 - P_{95}). При цьому сумарна активність NO-синтази в мозку була меншою на 15,4% ($p < 0,05$), відносно нелікованих тварин з ЧМТ, і знаходилась в діапазоні $152 \pm 3,06$ пмоль / хв на 1 мг протеїну (P_5 - P_{95}).

Таблиця 5.5 - Вплив курсової 8-ми денної інфузії Адемолу та амантадину сульфату на стан системи L-аргінін / NO в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою ($M \pm m$, $n=7$)

| Групи тварин | Показники | |
|---|-----------------------------------|--|
| | L-аргінін, нмоль / мг протеїну | NO-синтаза, пмоль / хв на 1 мг протеїну |
| Псевдоперовані тварини + 0,9% розчин NaCl | $60,8 \pm 0,90$ | $123 \pm 3,28$ |
| ЧМТ + 0,9 % розчин NaCl (контрольна патологія) | $27,7 \pm 0,79^{\circ}$ | $180 \pm 2,78^{\circ}$ |
| ЧМТ + адемола, 2 мг/кг в/в | $58,8 \pm 0,73^{\circ* \#}$ | $132 \pm 1,65^{\circ* \#}$ |
| ЧМТ + амантадину сульфат, 5 мг/кг в/в | $47,7 \pm 0,86^{\circ*}$ | $152 \pm 3,06^{\circ*}$ |

Примітка 1. $^{\circ}$ – $p < 0,05$ відносно псевдоперованих тварин.

Примітка 2. $*$ – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. $\#$ – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату (10 мг/кг в/в).

Таким чином, серед нейроцитопротекторних властивостей адемолу слід виділити його здатність попереджувати розвиток нітрозативного стресу та збільшувати запаси амінокислоти L-аргініну в клітинах головного мозку за умов ЧМТ.

5.5 Вплив адемолу на рівень фактору некрозу пухлин у головному мозку щурів із модельним травматичним ураженням мозку

Відомо, що цілісна відповідь організму на травматичне ураження ЦНС здійснюється шляхом взаємодії нервової, імунної та ендокринної систем, які використовують для цього схожі сигнальні молекули та рецепторні мішені (нейротрансмітери, цитокіни, фактори росту, гормони) [387]. Виявлення біомаркерів запалення в умовах ЧМТ може стати цінним фактологічним доповненням до поліпшення якості прогнозування фіналів травми головного мозку. Одним із таких маркерів може бути фактор некрозу пухлин альфа (TNF- α), який належить до групи прозапальних цитокінів. TNF- α поряд з інтерлейкінами-1 (альфа і бета) та інтерлейкіном-6 (ІЛ-1 α , ІЛ-1 β та ІЛ-6) продукується макрофагами, тканинними моноцитами, мікрогліальними клітинами, ендотеліоцитами, астроцитами і нейронами мозку, як відповідь на гостру або хронічну ішемію. В експериментах на тваринах різних видів (щури та монгольські піщанки) показано, що високі рівні прозапальних цитокінів TNF- α , ІЛ-1 α , ІЛ-1 β та ІЛ-6 володіють нейротоксичною дією, яка збільшує травматичне пошкодження нервової тканини, викликаючи загибель нервових клітин та гальмуючи нейрогенез [421]. Однак, останнім часом з'явилися дані і про можливий нейропротективний ефект TNF- α , який спрямовано на захист нейронів головного мозку від ексайтотоксичного ушкодження [387]. Таким чином, роль TNF- α при ЧМТ на даний момент є неоднозначною, що обумовлює інтерес до вивчення продукції цього цитокіну, як прогностичного критерію виживання хворих з ЧМТ.

У зв'язку з вищевикладеним, метою наступного етапу дослідження була оцінка рівня TNF- α в тканинах головного мозку при моделюванні ЧМТ у щурів, а також його зміни на тлі терапії блокаторами NMDA-рецепторів адемолом та амантадином сульфатом.

З'ясувалось, що розвиток ЧМТ супроводжується індукцією запальної реакції в тканинах головного мозку (табл. 5.6). Так, у псевдооперованих тварин середня

медіана вмісту TNF- α в тканині мозку становить $0,690 \pm 0,017$ нг / г сухої тканини, а перцентильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходиться в діапазоні $0,664-0,733$ нг / г сухої тканини. Станом на 8 добу після ЧМТ реєструється вірогідне зростання рівня TNF- α в тканині мозку в 2,7 рази ($p < 0,05$), що становить $1,86 \pm 0,02$ нг / г сухої тканини, а перцентильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходиться в діапазоні $1,83-1,89$ нг / г сухої тканини.

Таблиця 5.6 - Вплив курсової інфузії адемола та амантадину сульфату на рівень фактору некрозу пухлин (TNF- α) у головному мозку щурів на 8-му добу черепно-мозкової травми ($M \pm m$, $n=7$)

| Дослідні групи | Рівень TNF- α | |
|--|-----------------------------|-------------------------------|
| | пг/мл гомогената мозку | нг / г сухої тканини |
| Псевдоперовані тварини + 0,9% розчин NaCl | $34,5 \pm 0,86$ | $0,690 \pm 0,017$ |
| ЧМТ + 0,9 % розчин NaCl (контрольна патологія) | $93,2 \pm 0,82^{\circ}$ | $1,86 \pm 0,02^{\circ}$ |
| ЧМТ + адемола, 2 мг/кг в/в | $39,7 \pm 0,90^{\circ* \#}$ | $0,795 \pm 0,018^{\circ* \#}$ |
| ЧМТ + амантадину сульфат, 5 мг/кг в/в | $52,3 \pm 1,03^{\circ*}$ | $1,05 \pm 0,02^{\circ*}$ |

Примітка 1. $^{\circ}$ – $p < 0,05$ відносно псевдоперованих тварин.

Примітка 2. $*$ – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. $\#$ – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату.

Застосована фармакотерапія в різній мірі зменшувала активність запальної реакції в тканинах головного мозку за ЧМТ (табл. 5.6). Найбільш ефективним протизапальним агентом за ЧМТ виявився адемола. У тварин, яким застосовували адемола, вміст TNF- α в тканинах мозку виявився меншим на 57,3 % ($p < 0,05$), відносно групи контрольної патології і становила $0,795 \pm 0,018$ нг / г сухої тканини, а перцентильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився в діапазоні $0,763-0,829$ нг / г сухої тканини. За протизапальним ефектом амантадин сульфат значно поступався адемола. За цих умов рівень TNF- α в тканинах мозку виявився меншим на 43,5 %

($p < 0,05$), відносно групи контрольної патології і дорівнювала $1,05 \pm 0,02$ нг / г сухої тканини, а перцентильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився в межах 1,02-1,09 нг / г сухої тканини.

Так, церебропротекторна активність адемолу реалізується також через пригнічення розвитку запальної реакції в тканинах головного мозку.

Отже, проведені дослідження засвідчили, що ураження клітин головного мозку при ЧМТ реалізується через різноманітні молекулярні механізми:

- розвиток стероїдної нейротоксичності (збільшення вмісту кортизолу в крові сагітального синусу головного мозку);
- виникнення гіпоенергетичного стану (зменшення вмісту АТФ та зростання рівнів АДФ та АМФ в мозку, зниження енергетичного заряду) на тлі зниження активності окисного фосфорилювання та порушення його супряження з тканинним диханням;
- пригнічення аеробного окиснення глюкози та активація анаеробного гліколізу з розвитком лактат-ацидозу (зменшення вмісту пірувату, зростання рівня лактату та співвідношення лактат / піруват в тканинах мозку) на тлі дефіциту АТФ та надлишку АДФ;
- зменшення активності ферментативної антиоксидантної ланки (зниження активності ферментів СОД, ГПО, каталази в мозку), що супроводжується накопиченням активних кисневих дериватів та гіперактивацією вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів (зростає вміст малонового діальдегіду та карбонільних груп протеїнів в мозку);
- розвиток пертурбацій в системі L-аргінін / NO-синтаза, а саме виснаження запасів L-аргініну та активація NO-синтази, що супроводжується надмірним накопиченням нітроген монооксиду та розвитком нітрозативного стресу
- індукція запальної реакції в тканинах головного мозку (збільшення рівня TNF- α).

Курсове 8-ми денне інфузійне введення щурам з ЧМТ розчину адемолу в умовно-ефективній дозі 2 мг/кг в/в виявляло потужну нейроцитопротекторну активність, яка значно перевищувала таку в амантадина сульфату, і реалізовувалась через наступні біохімічні механізми: зменшення стероїдної нейротоксичності, покращення енергетичного обміну, посилення окисного фосфорилювання та його супряження з тканинним диханням, активація аеробного окиснення глюкози, зменшення лактат-ацидозу, зниження активності процесів ліпопероксидації та окисної деградації протеїнів на тлі зростання активності ферментативної антиоксидантної системи, зменшення пертурбацій в системі L-аргінін / NO-синтаза та депримуєчий вплив на активність нітрозативного стресу, попередження розвитку запальної реакції в тканинах головного мозку.

Перелік публікацій, в яких висвітлено основні матеріали даного розділу: [86, 111, 398, 403, 431, 432, 438, 439, 440, 441, 442].

РОЗДІЛ 6

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КУРСОВОЇ ТЕРАПІЇ АДЕМОЛУ НА ПРОЦЕСИ НЕЙРОДЕСТРУКЦІЇ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ

6.1 Вплив адемолу на вміст нейронспецифічної енолази, білку S100 та мозкового нейротрофічного фактора у щурів із черепно-мозковою травмою

Для більш ґрунтовної оцінки величини церебропротекторної дії адемолу за умови його інфузійного курсового в/в введення в умовно-ефективній дозі 2 мг/кг на моделі ЧМТ у щурів доцільним було охарактеризувати інтенсивність перебігу деструктивних змін в мембранах нейронів за динамікою вмісту нейронспецифічної енолази (NSE), яка є раннім маркером пошкодження нервової тканини. NSE локалізується переважно в нейронах та нейроендокринних клітинах. При неврологічних захворюваннях, у тому числі при ЧМТ, відмічається вихід нейрон-специфічних ензимів та їх ізоферментів із пошкоджених нейронів, що дозволяє дослідити глибину та інтенсивність структурно-функціональних порушень біомембран у ЦНС на ранніх етапах [419].

За результатами дослідження ЧМТ у щурів супроводжується розвитком нейродеструктивних змін в головному мозку (рис. 6.1). У псевдооперованих тварин рівень NSE в сироватці крові є низьким і в середньому за показником становив $0,185 \pm 0,009$ нг/мл. Розвиток ЧМТ супроводжувалось зростанням вмісту NSE в сироватці крові до $0,915 \pm 0,044$ нг/мл, що перевищувало показники псевдооперованих тварин у 4,95 рази ($p < 0,05$). Застосовані фармакологічні блокатори NMDA-рецепторів з різною ефективністю стримували розвиток нейродеструктивних змін. За вказаним ефектом адемомол перевищував амантадин сульфат. В групі тварин, які отримували адемомол, вміст NSE в сироватці крові становив $0,438 \pm 0,026$ нг/мл, що на 52,1 % менше, ніж в групі контрольної патології. Натомість, у тварин, яким застосовували амантадин сульфат, вміст NSE

в сироватці крові становив $0,565 \pm 0,013$ нг/мл, що на 29,0 % менше, ніж в групі контрольної патології (табл. 6.1).

Таблиця 6.1 - Вплив курсової інфузії адемола та амантадину сульфату на динаміку рівнів нейрон-специфічної енолази та білка S 100 у щурів із черепно-мозковою травмою на 8-му добу експерименту ($M \pm m$)

| Дослідні групи | Вміст NSE (нг/мл) | Вміст білка S100 (нг/мл) |
|--|--|---|
| Псевдоперовані тварини + 0,9% розчин NaCl | $0,185 \pm 0,009$ | $0,231 \pm 0,013$ |
| ЧМТ + 0,9 % розчин NaCl (контрольна група) | $0,915 \pm 0,044^{\circ}$ (+394%) | $1,73 \pm 0,07^{\circ}$ (+649%) |
| ЧМТ + адемола, 2 мг/кг в/в | $0,438 \pm 0,026^{\circ* \#}$ (+136%), [-52,1%] {-22,5%} | $0,850 \pm 0,05^{\circ* \#}$ (+268%), [-50,8%] {-18,2%} |
| ЧМТ + амантадину сульфат, 5 мг/кг в/в | $0,565 \pm 0,013^{\circ*}$ (+205%), [-38,2%] | $1,04 \pm 0,04^{\circ*}$ (350%), [-39,9%] |

Примітка 1. $^{\circ}$ – $p < 0,05$ відносно псевдоперованих тварин.

Примітка 2. $*$ – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. $\#$ – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату.

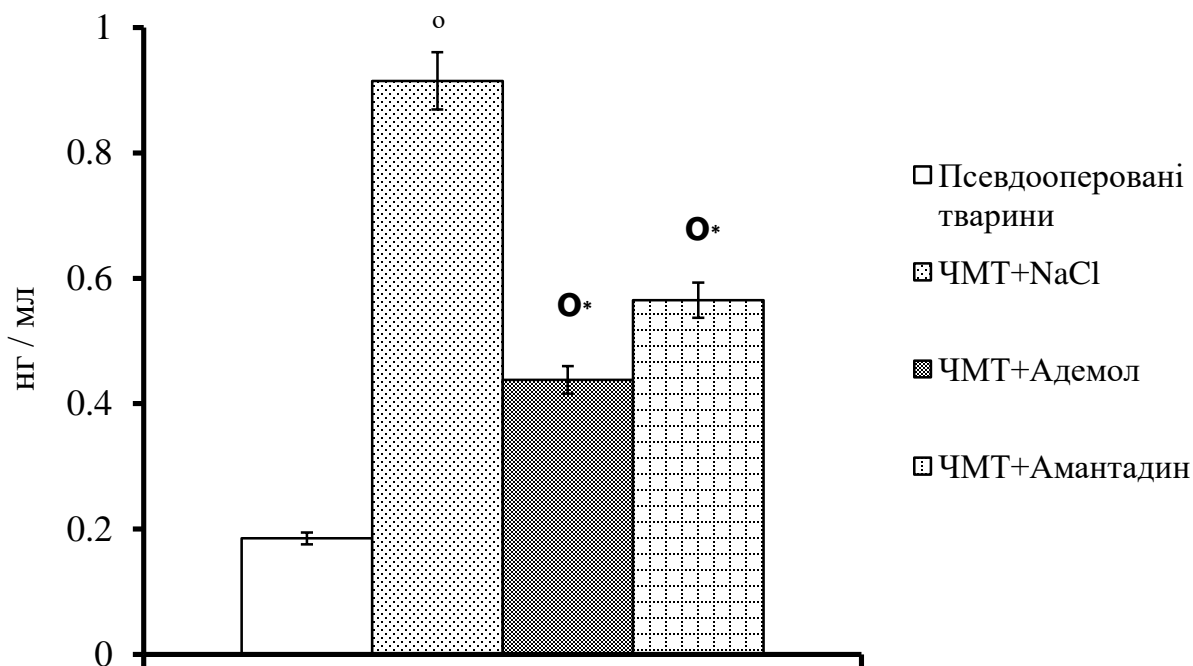
Примітка 4. () – відносно показника псевдоперованих щурів.

Примітка 5. [] – відносно показника контрольної патології.

Примітка 6. { } – відносно терапії амантадином сульфатом.

Як свідчать літературні дані [102], на відміну від NSE, яка є внутрішньоклітинним ферментом, і підвищення її активності безпосередньо вказує на пошкодження цілісності мембран нейроцитів, білок S100 являє собою специфічний пептид астроцитарної глії, а зростання його рівня відображає запальну реакцію в гліальній тканині та вказує на інтенсивний поділ клітин нейроглії та активність нейроаптозу. Зазначені процеси характеризують етап організації альтераційного осередку та заміщення гліальними клітинами тих нейроцитів, які загинули некротичним шляхом. Розвиток запальної реакції в

нервовій тканині є прямим наслідком некрозу нейронів у вогнищі деструкції і фактором, що підтримує вторинне пошкодження клітин та неконтрольовану експансію осередку [102].



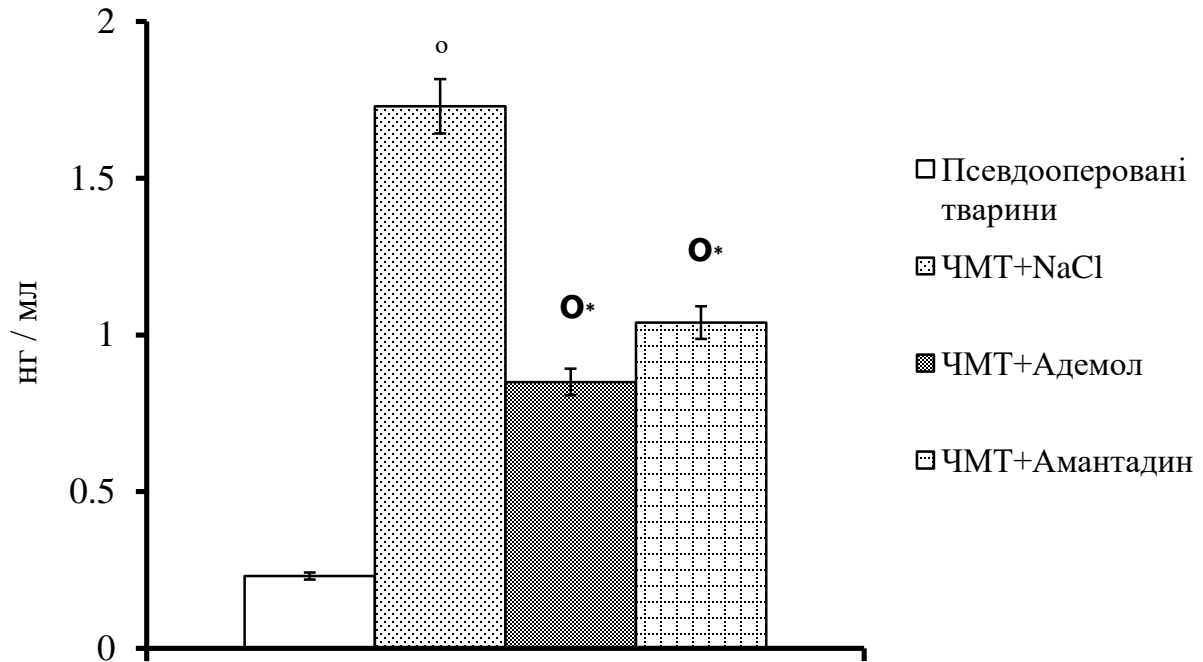
Примітка 1. ° – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин

Примітка 2. * – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. # – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату (10 мг/кг в/в).

Рис. 6.1. Вплив курсової 8-ми денної інфузії адемола та амантадину сульфату на вміст NSE в сироватці крові щурів із ЧМТ ($M \pm m$, $n=7$).

За даними наших досліджень, ЧМТ у щурів викликає інтенсивну нейрогліопрولیферацію та нейроапоптоз (рис. 6.1.2). В групі псевдооперованих тварин вміст білка S100 в сироватці крові є низьким і в середньому становив $0,231 \pm 0,013$ нг/мл. У нелікованих тварин з ЧМТ реєструється зростання вмісту білка S 100 в сироватці крові в середньому до $1,73 \pm 0,07$ нг/мл, що перевищує відповідні показники псевдооперованих тварин у 7,5 рази ($p < 0,05$).



Примітка 1. ° – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин

Примітка 2. * – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. # – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату (10 мг/кг в/в).

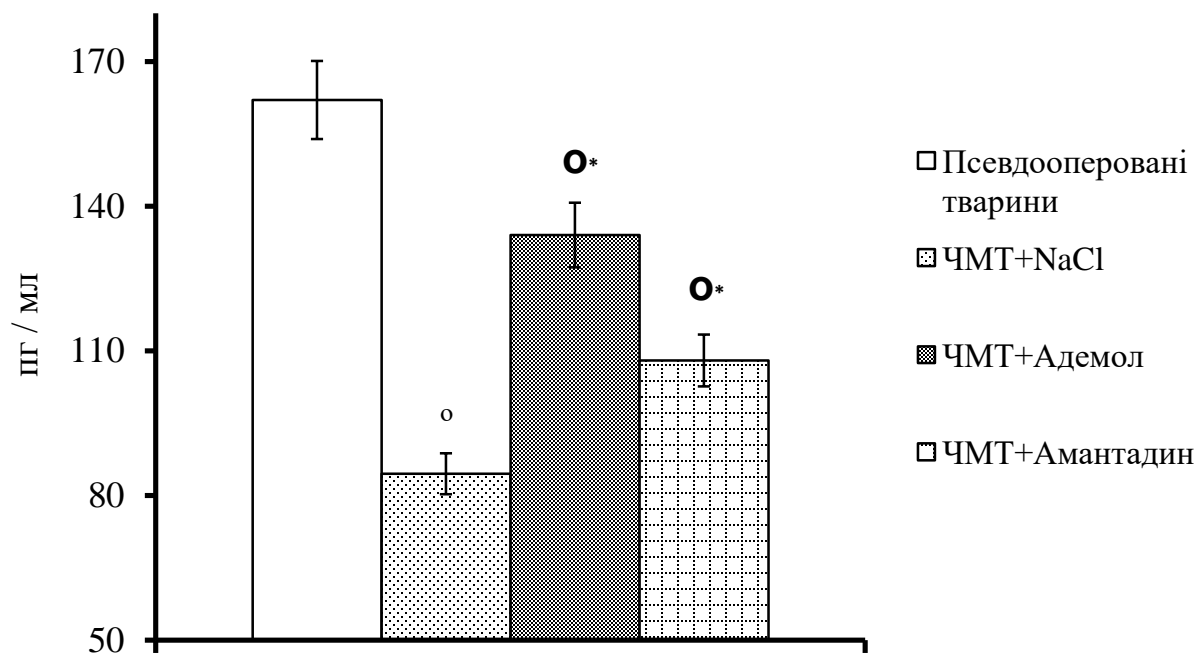
Рис. 6.2. Вплив курсової 8-ми денної інфузії адемолу та амантадину сульфату на вміст білка S100 в сироватці крові щурів із ЧМТ ($M \pm m$, $n=7$).

Досліджувані препарати і, особливо адемол, стримували розвиток інтенсивної нейрогліопроліферації та нейроаптозу за ЧМТ (рис. 6.2). В групі тварин, лікованих адемолем, вміст білка S100 в сироватці крові становив $0,850 \pm 0,05$ нг/мл, що в 2,04 рази менше ($p < 0,05$), ніж в групі контрольної патології. В той же час, у щурів, лікованих амантадином сульфатом, вміст цього білка в сироватці крові становив $1,04 \pm 0,04$ нг/мл, що в 1,66 рази менше ($p < 0,05$), ніж в групі контрольної патології.

На наступному етапі ми оцінили динаміку зміни вмісту мозкового нейротрофічного фактору (BDNF) за ЧМТ і на тлі фармакотерапії. За даними літератури BDNF є плейотропним цитокіном, який виявляється в гіпокампі, фронтальній корі, неостріатумі щурів та відіграє важливу роль в регуляції

нейрональної активності, синтаптичної пластичності, структурного та функціонального стану глутаматергічних синапсів, процесів навчання та пам'яті та регулює репаративні процеси в мозку. Дефіцит BDNF розглядають як чинник неврологічної та психіатричної патології (хвороби Альцгеймера, депресії) [406].

Виявилось, що ЧМТ у щурів має депримуєчий вплив на продукцію вказаного цитокіну, що ймовірно свідчить про зниження репаративних процесів у мозку (рис. 5.3). У псевдооперованих тварин рівень BDNF в сироватці крові становить $162 \pm 12,8$ (Me=177; 95% ДІ 111-194) пг / мл. В той же час у тварин групи контрольної патології вміст цього цитокіну на 47,8 % менший ($p < 0,05$), ніж у псевдооперованих тварин, і в середньому становить $84,5 \pm 7,83$ (Me=86,5; 95% ДІ 57,6-110) пг / мл.



Примітка 1. ° – $p < 0,05$ відносно псевдооперованих тварин

Примітка 2. * – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Примітка 3. # – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату (10 мг/кг в/в).

Рис. 6.3. Вплив курсової 8-ми денної інфузії адемола та амантадину сульфату на вміст BDNF в сироватці крові щурів із ЧМТ ($M \pm m$, $n=7$).

Застосовані фармакопрепарати стримують формування дефіциту нейротрофічного фактору, причому адемола значно випереджає амантадин за цим ефектом (рис. 6.3). В групі тварин з ЧМТ, яким вводили адемола, рівень BDNF в сироватці крові становив $134 \pm 8,26$ (Me=130; 95% ДІ 106-160) пг / мл, що на 58,6 % більше ($p < 0,05$), ніж в групі контрольної патології. У щурів, лікованих амантадином, вміст нейротрофічного фактору в сироватці крові за середніми величинами відповідає $108 \pm 7,38$ (Me=95,8; 95% ДІ 91,4-136) пг / мл і на 27,8 % більше ($p < 0,05$), ніж в групі контрольної патології. Слід зауважити, що рівень BDNF в сироватці крові за умов лікування ЧМТ адемолом вірогідно більший на 24,1 % ($p < 0,05$), порівняно з такими показниками при лікуванні амантадином сульфатом.

Таким чином, результати дослідження показали, що застосування адемола на тлі ЧМТ зменшує виразність нейродеструктивних процесів, знижує активність нейрогліопроліферації, а також стимулює репаративні процеси у головному мозку.

6.2 Вплив Адемола на процеси нейроапоптозу у щурів у посттравматичний період

Вирішення питання про те, який вид клітинної смерті переважає при травматичному пошкодженні головного мозку, має важливе практичне значення для розробки нових методів патогенетичної терапії ЧМТ, оскільки відновний потенціал нейронів та нейроглії різко обмежений та втрата навіть деякої частини клітин головного мозку може закінчитись фатально для постраждалого від травматичного пошкодження. Кількість маси некротично та апоптотично загиблих нейронів у загальний об'єм ушкодженої нервової тканини досить різний та залежить від багатьох умов. Враховуючи складність методик та швидку елімінацію апоптотичних клітин, оцінка їх сумарної частки в травматично пошкодженій ділянці головного мозку є непростим завданням, яке можна

виконати залучивши протокові-цитометричний аналіз. Метод протокової цитометрії дає змогу верифікувати апоптоз на незворотніх стадіях за маркером встановлення факту фрагментації ядерної ДНК нейронів [380].

Подальше вивчення можливих механізмів захисної дії досліджуваних церебропротекторів на травматично пошкоджений головний мозок показало, що у групі контрольної патології (ЧМТ + 0,9% розчин NaCl) інтенсивність фрагментації ДНК в ядрах нейронів темпоральної кори головного мозку щурів на 8 добу після моделювання ЧМТ вірогідно підвищилася у 3 рази або на 198,2% (рис. 6.2 та 6.3, табл. 6.2).

Оцінюючи вище вказане зростання фрагментації ДНК у групі контрольної патології, можна говорити про процес інтенсивного формування посттравматичного вогнища саме за рахунок нейроцитів, які перебувають у стані апоптотичної смерті.

Аналіз лікувального курсового введення адемоу в дозі 2 мг/кг протягом досліджуваного періоду показав найкращу ефективність вказаного церебропротектора в порівнянні з 0,9% розчином NaCl та амантадином сульфату. Після курсового (впродовж 8-ми діб) введення щурам у гострий період травматичного пошкодження головного мозку амантадину сульфату в дозі 5 мг/кг, в ядрах клітин кори головного мозку щурів визначались менші значення показників інтервалу Sub-G0G1 відносно аналогічного показника тварин контрольної групи в середньому на 26,2% ($p < 0,05$), але все ж таки досліджуваний показник залишався вищим за показники групи псевдооперованих тварин на 120,1% ($p < 0,05$). Отримані дані свідчать про деяке зменшення процесів апоптотичного пошкодження клітин кори головного мозку щурів на фоні експериментального лікування травматичного ураження головного мозку амантадином сульфатом.

Аналіз впливу амантадину сульфату щодо впливу на фрагментацію ДНК в ядрах клітин кори головного мозку в гострому періоді ЧМТ показали зменшення

досліджуваного показника (апоптичної загибелі нейронів) в порівнянні з групою контрольної патології на 26,2% ($p < 0,05$) (табл. 6.1; рис. 6.4).

При цьому оцінка ефективності адемола коригувати процеси апоптичної загибелі нейронів кори травматично пошкодженого головного мозку показало кращий лікувальний ефект в порівнянні як з групою контрольної патології так і з групою референс препарату – амантадину сульфату. Так, було визначено статистично достовірне зменшення фрагментації ДНК в ядрах клітин кори головного мозку в досліджуваному періоді при застосуванні Адемола в порівнянні з групою контрольної патології на 46,2% ($p < 0,05$) (табл. 6.2; рис. 6.5 та 6.6).

Таблиця 6.2 - Вплив курсової інфузії адемола та амантадину сульфату на фрагментацію ДНК в ядрах нейронів кори головного мозку щурів із черепно-мозковою травмою на 8-му добу експерименту ($M \pm m$, $n=5$)

| Умови досліджу | Фрагментація ДНК, % |
|---|---|
| Псевдоперовані тварини + 0,9% розчин NaCl | 5,21±0,047 |
| ЧМТ + 0,9% розчин NaCl (контрольна група) | 15,54±0,42 ° (+198,2%) |
| ЧМТ + адемола, 2 мг/кг в/в | 8,35±0,133 °*# (+60,2%), [-46,2%], {-27,2% } |
| ЧМТ + амантадину сульфат, 5 мг/кг в/в | 11,47±0,02 °* (+120,1%), [-26,2%] |

Примітка 1. ° – $p < 0,05$ відносно псевдоперованих тварин.

Примітка 2. * – $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

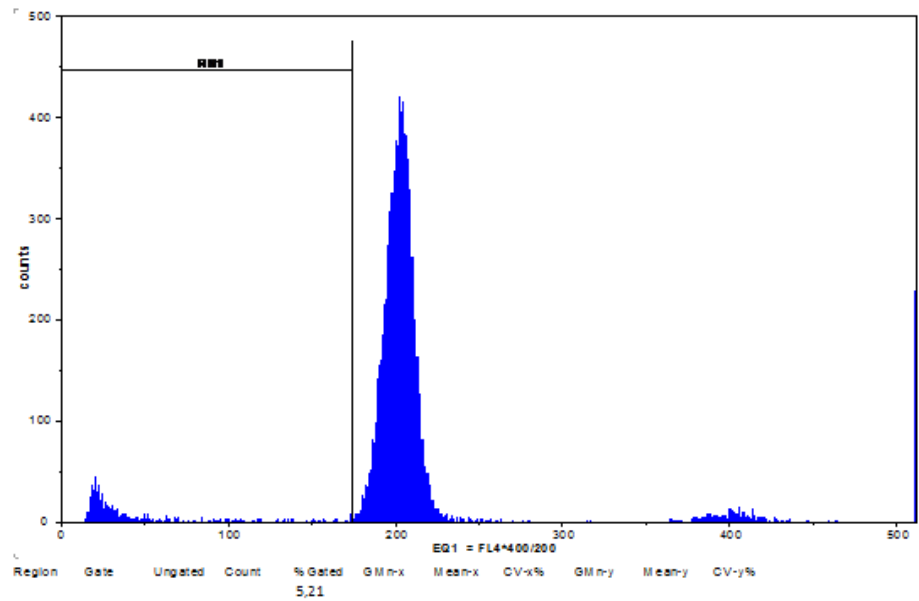
Примітка 3. # – $p < 0,05$ відносно амантадину сульфату.

Примітка 4. () – відносно показника псевдоперованих щурів.

Примітка 5. [] – відносно показника контрольної патології.

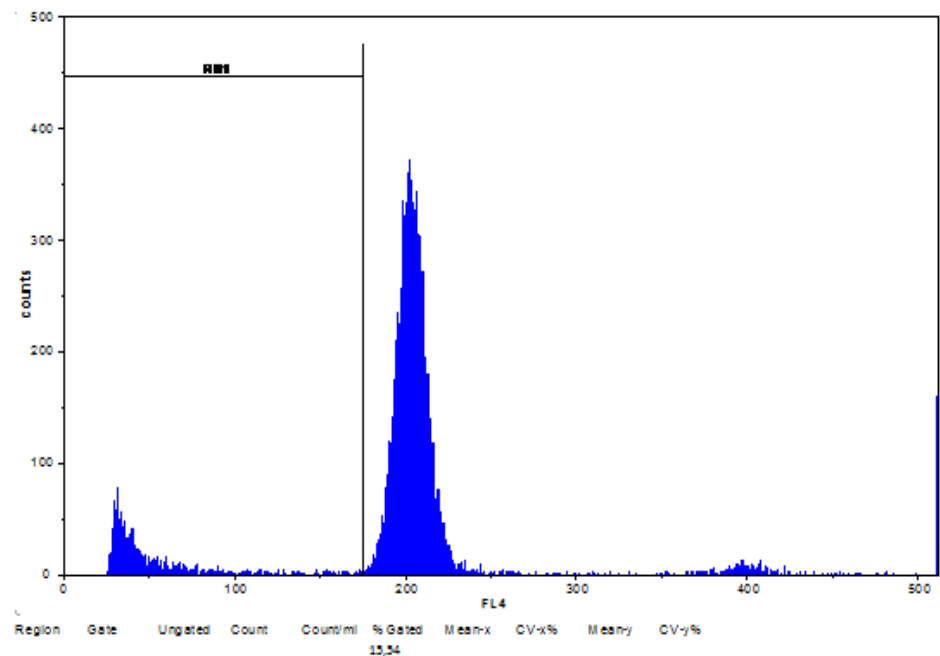
Примітка 6. { } – відносно терапії амантадином сульфатом.

За спроможністю знижувати рівень фрагментованої ДНК в ядрах нейронів часток кори головного мозку щурів на 8 добу ЧМТ, адемола вірогідно перевершував референс-препарат в середньому на 27,2% (табл. 6.2; рис. 6.3 та 6.4).



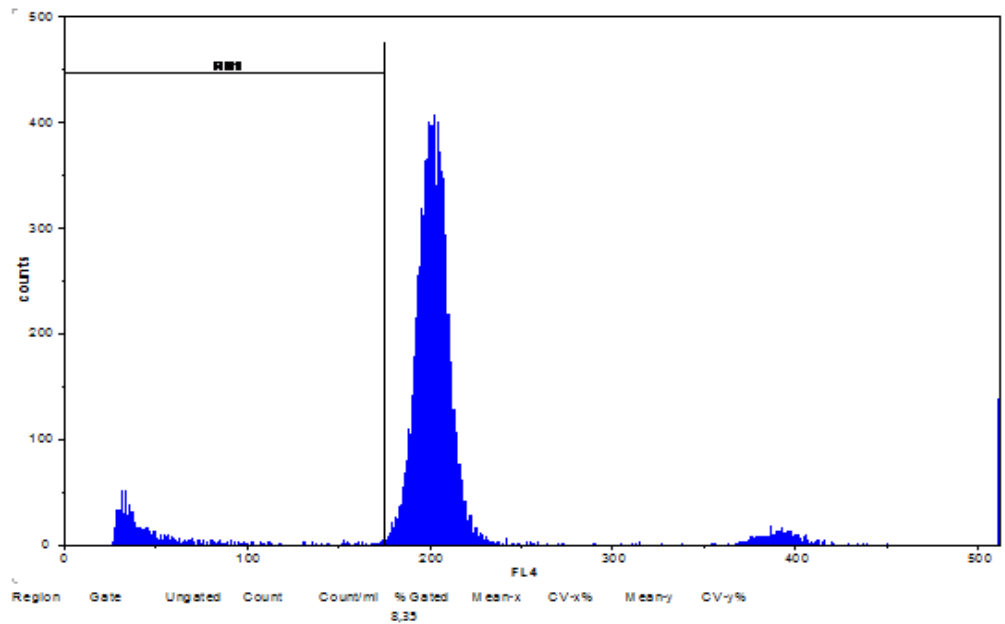
(Sub-G1) – 5,21%

Рис. 6.4. Фрагментація ДНК в ядрах клітин кори головного мозку псевдооперованого щура на 8 добу. Проточна цитометрія. Кількість подій 10000.



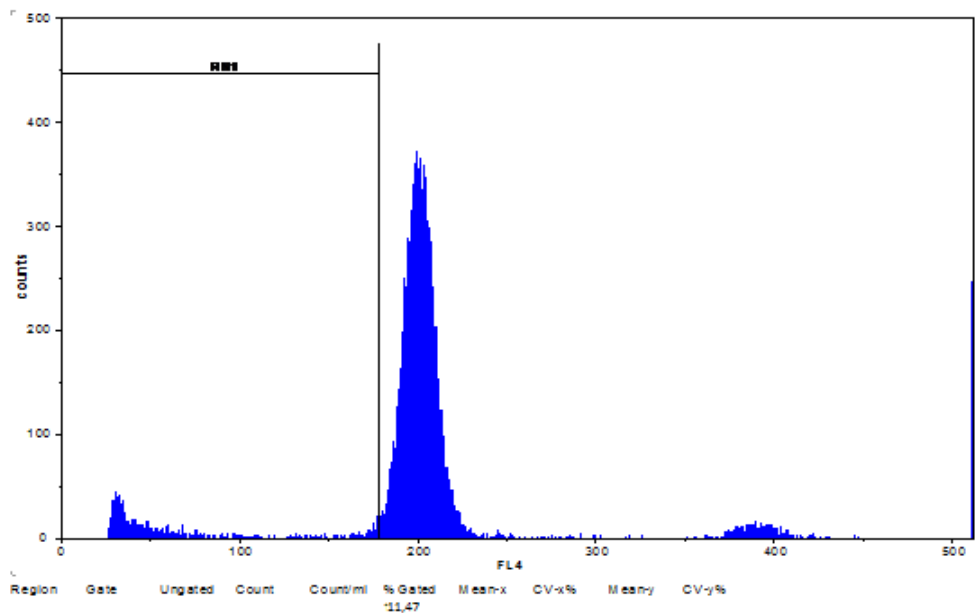
(Sub-G1) – 15,54%

Рис. 6.5. Фрагментація ДНК в ядрах клітин кори головного мозку щура із черепно-мозковою травмою на 8 добу (контрольна група). Проточна цитометрія. Кількість подій 10000.



(Sub-G1) – 8,35%

Рис. 6.6. Фрагментація ДНК в ядрах клітин кори головного мозку щура з моделлю черепно-мозкової травми, якому проводилась курсова терапія адемолом (2 мг/кг) на 8 добу. Проточна цитометрія. Кількість подій 10000.



(Sub-G1) – 11,47%

Рис. 6.7. Фрагментація ДНК в ядрах клітин кори головного мозку щура з моделлю черепно-мозкової травми, якому проводилась курсова терапія амантадином сульфатом (5 мг/кг) на 8 добу. Проточна цитометрія. Кількість подій 10000.

Таким чином, при порівнянні ефективності досліджуваних церебропротекторів, дія яких пов'язана з блокадою NMDA-рецепторів за показником фрагментації ДНК (SUB-G0G1) ядер клітин кори у щурів з ЧМТ встановлено, що терапія розчином адемолу в дозі 2 мг/кг виявилась вірогідно кращою за інфузію амантадину сульфату в дозі 5 мг/кг на 27,2% ($8,35 \pm 0,133\%$ проти $11,47 \pm 0,02\%$) ($p < 0,05$). На нашу думку, пригнічення інтенсивності нейроапоптозу в корі травматично пошкодженого головного мозку щурів на тлі адемолу свідчить про зменшення вогнища нейродеструкції за рахунок збереження числа морфологічно непошкоджених нейроцитів, і є одним із провідних механізмів його церебропротекторної дії при травматичних пошкодженнях головного мозку при його застосуванні умово-ефективною дозою 2 мг/кг.

6.3 Оцінка морфологічних змін в структурах головного мозку щурів на тлі курсової терапії модельної черепно-мозкової травми адемолом

Вивчення гістологічних зрізів сенсо – моторної зони великих півкуль головного мозку псевдооперованих тварин групи контролю показало, що їхня гістологічна структура відповідала нормі. Цитоархітектоніка півкуль була збережена і відповідала її шестишаровій будові, тобто складалась з молекулярного, зовнішнього зернистого, пірамідного, внутрішнього зернистого, гангліонарного та шару поліморфних клітин. У нейроглії чітко проглядались нервові волокна, нейрони та кровоносні судини. Нейрони мали нормальну структуру, їх ядра розміщені центрально, цитоплазма була однорідна. Морфологічна структура гіпокампа також відповідала нормі. Він складався з трьох шарів клітин: молекулярного, клітинного та поліморфного. Клітинний, або гранулярний шар розташований між молекулярним та поліморфним шаром. Молекулярний шар утворений в основному дендритами гранулярних клітин клітинного шару та пірамідних кошикових нейронів. Клітинний шар складається в основному зі щільно упакованих гранулярних клітин, що складають понад 95%

його об'єму. Окрім гранулярних клітин у цьому шарі трапляються й клітини інших типів, такі як пірамідні кошикові нейрони, які можна знайти переважно на межі клітинного шару та хілусу. Поліморфний шар складається з нейронів великої кількості різних типів, зокрема мохових клітин. Окрім нейронів велику частку об'єму молекулярного та поліморфного шарів (і значно меншу — в гранулярному шарі) займають клітини астроглії.

Морфологічна своєрідність гіпокампа полягає в тому, що він має чіткий шаруватий рисунок, на якому сіра і біла речовини чергуються строго паралельно. Причиною цього є своєрідне положення основних клітинних елементів амонового рога — великих пірамідних нейронів з довгими апікальними дендритами. За їх формою і кількісним складом розрізняють кілька морфологічно і функціонально гетерогенних полів — CA1, CA2, CA3 і CA4.

За даними літератури [274], відомо, що при розвитку вторинної ішемії ГМ, запускається ланцюг механізмів, які в кінцевому етапі патогенетичного ланцюга призводять до формування незворотних деструктивних змін в нервових клітинах ГМ. В залежності від тривалості та величини ураження ГМ відбувається формування зони інфаркту мозку.

При морфологічному дослідженні сенсомоторної ділянки кори великих півкуль та ділянки CA1 гіпокампу головного мозку псевдооперованих щурів на мікропрепаратах чітко візуалізувались основні структурні компоненти нейронів (ядро, ядерце, дендрити та аксони), кровоносні капіляри та нейропіль (рис. 6.8, 6.9). Клітини кори ГМ сформовані в більшості з протоплазматичних астроцитів та структурних клітин нейроглії, які містяться переважно в провідникових ділянках ГМ. Тонка мозкова оболонка повнокровна, з достатньою кількістю кровоносних судин. Стінка судин не пошкоджена, ендотелій однорідний за формою і розмірами, повністю вистелає внутрішню поверхню судин, базальні мембрани без змін. М'яка мозкова оболонка вкриває канали великих кровоносних судин. Артерії та артеріоли в м'якій мозковій оболонці помірно повнокровні, в просвіті є еритроцити.

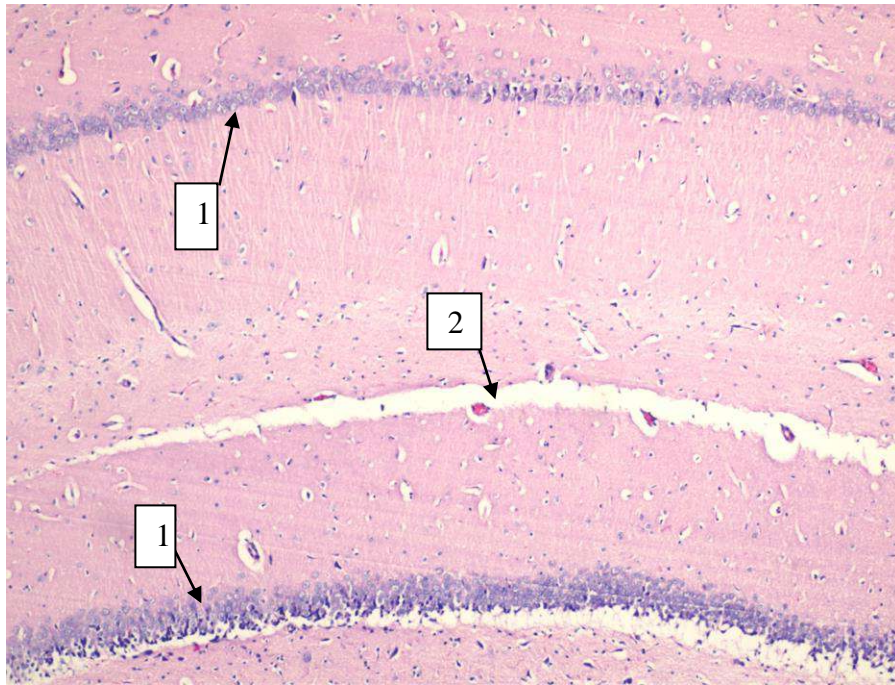


Рис.6.8. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль інтактного щура. Нормальна гістологічна структура сенсомоторної зони головного мозку щура. Забарвлення гематоксилін – еозин. $\times 100$. Нормальні нейроцити (1), повнокровні капіляри (2).

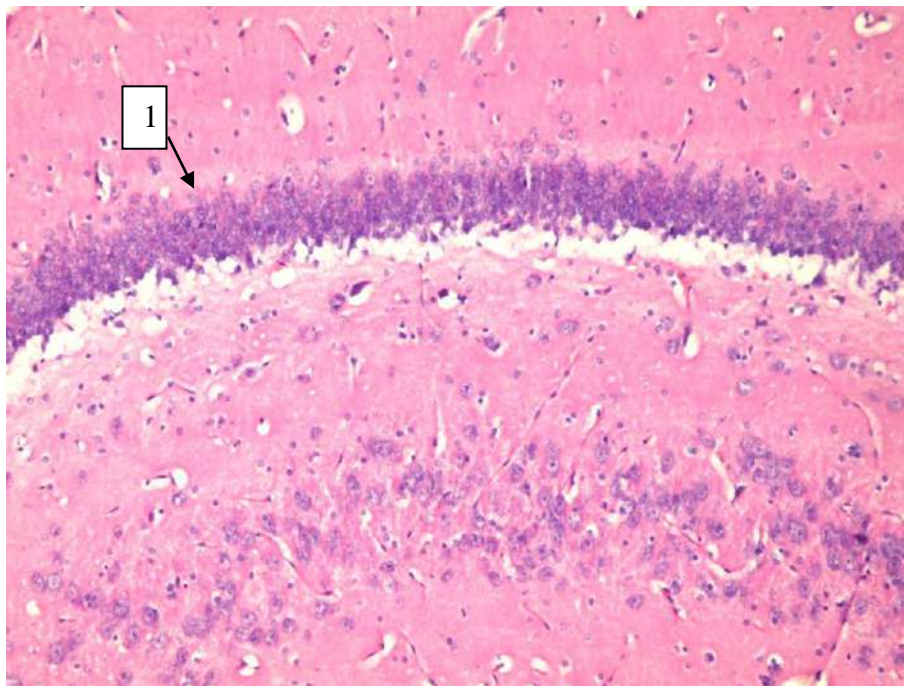


Рис. 6.9. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль інтактного щура. Забарвлення гематоксилін – еозин. $\times 200$. Нормальна гістологічна картина нейронів гіпокампа головного мозку щура, нормальні нейроцити (1).

В деяких спостереженнях у псевдооперованих щурів у частині нейронів сенсомоторної ділянки кори великих півкуль визначався тигроліз нейроплазми. Базофільна речовина конденсувалася у дрібні грудочки, що обумовлювало просвітлення нейроплазми, таким чином, нейроцити ставали гіпохромними, збільшувались у розмірах, набували округлої форми, дендрити та аксони витончувались, ставали малопомітними, зменшувалась кількість нормальних полігональної форми нейронів (рис. 6.10).

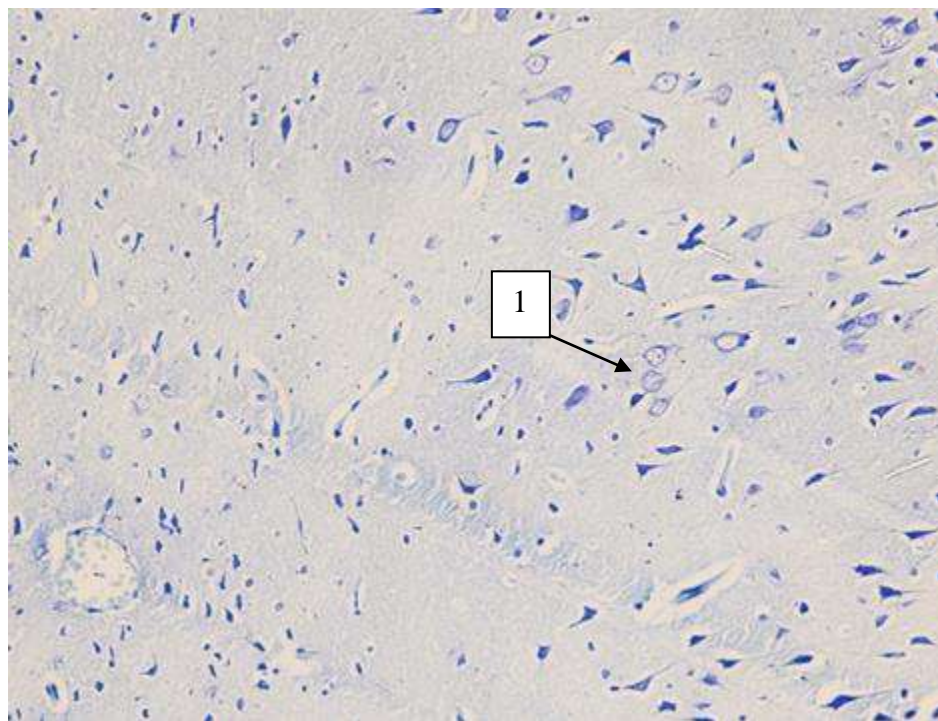


Рис. 6.10. Гістологічний зріз фрагмента сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку псевдооперованого щура. Забарвлення толуїдиновий синій. $\times 200$. Гіпохромні нейроцити з просвітленою нейроплазмою, її тигролізом, малопомітними аксонами та дендритами (1).

Між тілами нейроцитів та нейропілем визначається простір. На відміну від нейронів, клітини нейроглії мали значно меншу величину та більш темні компактні ядра. Нейроглія в корі великих півкуль та зоні CA1 гіпокампу псевдооперованих щурів була представлена протоплазматичними астроцитами та

клітинами мікроглії. Капіляри були помірно повнокровні, кортикальні артеріоли також були помірно повнокровні, з суцільною базальною мембраною, однаковими за розмірами та формою ендотеліоцитами. Мав місце периваскулярний набряк (рис. 6.11, 6.12).

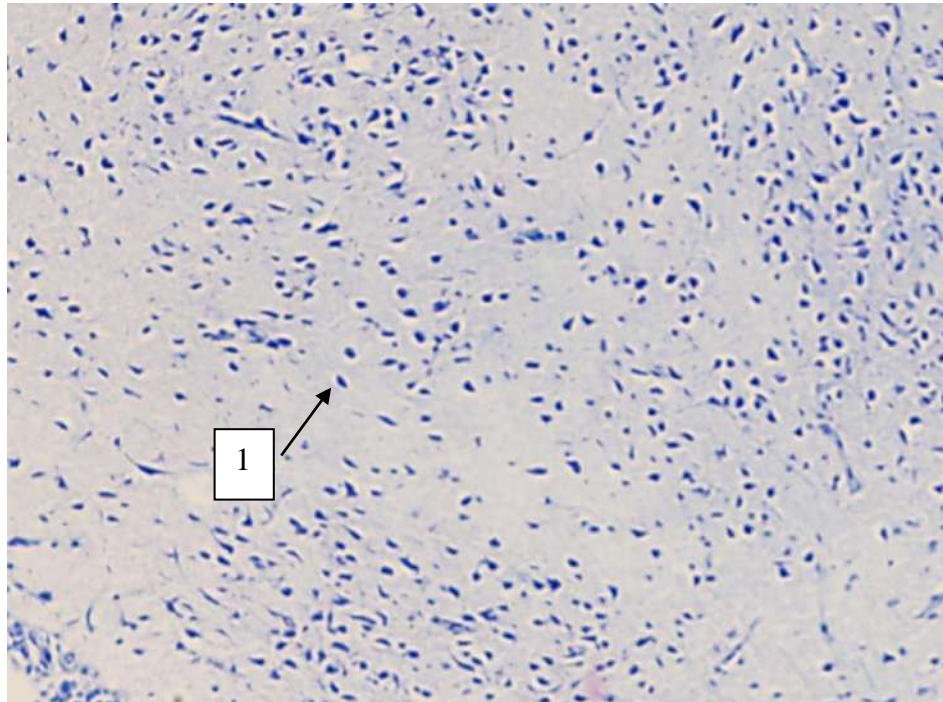


Рис. 6.11. Гістологічний зріз фрагмента сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку псевдооперованого щура. Забарвлення толуюдиновий синій. $\times 100$. Нейроглія в корі великих півкуль та зоні СА1 гіпокампу псевдооперованих щурів, представлена протоплазматичними астроцитами та клітинами мікроглії (1).

Поряд із гіпохромними нейроцитами у сенсомоторній ділянці кори великих півкуль головного мозку псевдооперованих щурів виявлялись гіперхромні нейроцити. Нейроплазма їх була інтенсивно забарвлена у синій колір. Тіла нейроцитів були менших розмірів, дендрити та аксони були витончені та видовжені. Навколо них визначалось просвітлення глії, визначався помірний периваскулярний набряк. (рис. 6.13-6.17).

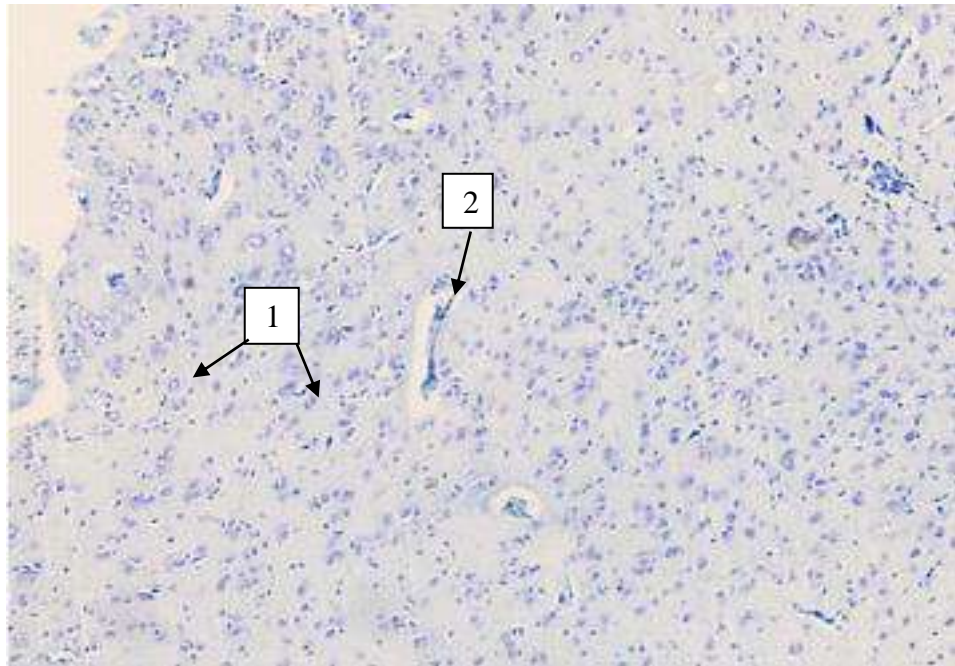


Рис. 6.12. Гістологічний зріз фрагмента сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку псевдооперованого щура. Забарвлення толуїдиновий синій, $\times 100$. Нейроглія в зоні СА1 гіпокампу псевдооперованих щурів. Повнокровні капіляри (1); протоплазматичні астроцити (2).

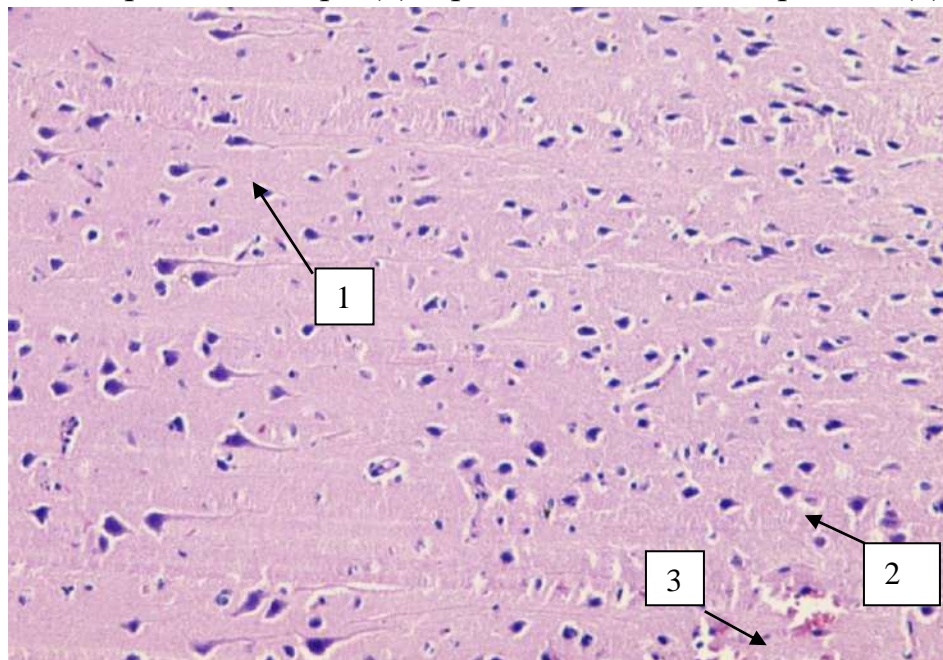


Рис. 6.13. Гістологічний зріз фрагмента сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку псевдооперованого щура. Забарвлення гематоксилін – еозин. $\times 200$. Різко гіперхромні, пікнотично змінені нейроцити з подовженими відростками (1), виражений перичелюлярний набряк (2), мікровогнищевий крововилив (3).

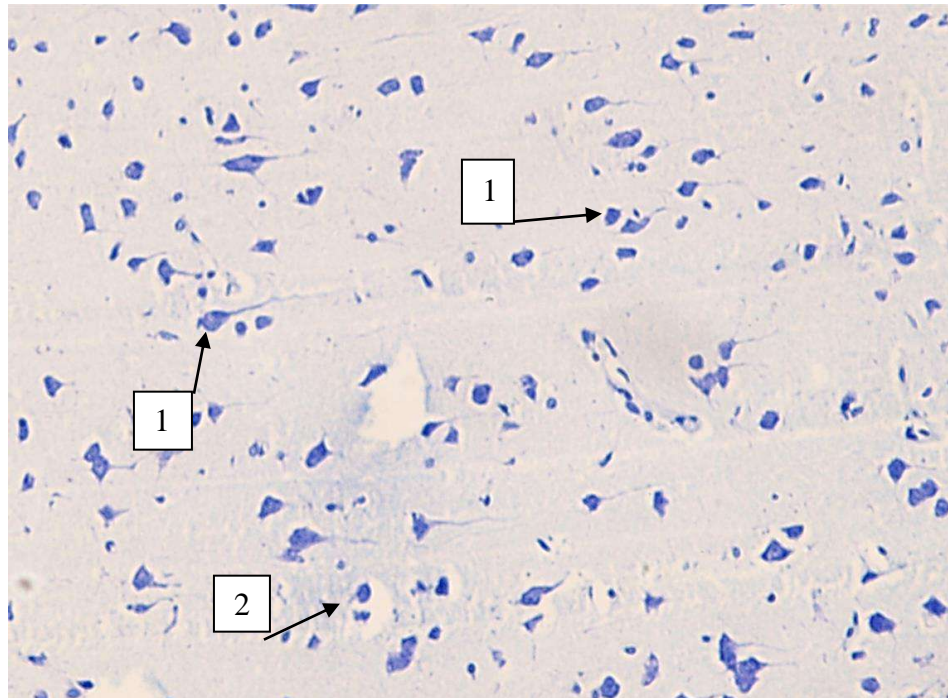


Рис. 6.14. Гістологічний зріз фрагмента сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку псевдооперованого щура. Забарвлення толуїдиновий синій. $\times 200$. Різко гіперхромні, пікнотично змінені нейрони з подовженими відростками (1), виражений перичелюлярний набряк (2).

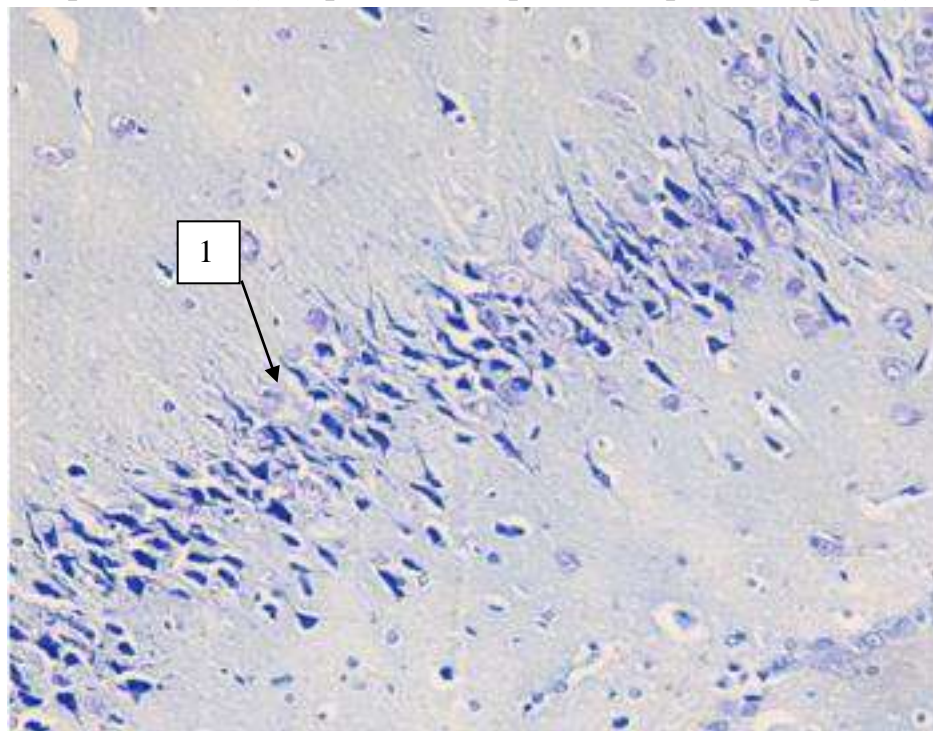


Рис. 6.15. Гістологічний зріз фрагмента гіпокампальної зони головного мозку псевдооперованого щура. Забарвлення толуїдиновий синій. $\times 200$. Різко гіперхромні, пікнотично змінені нейрони з подовженими відростками (1).

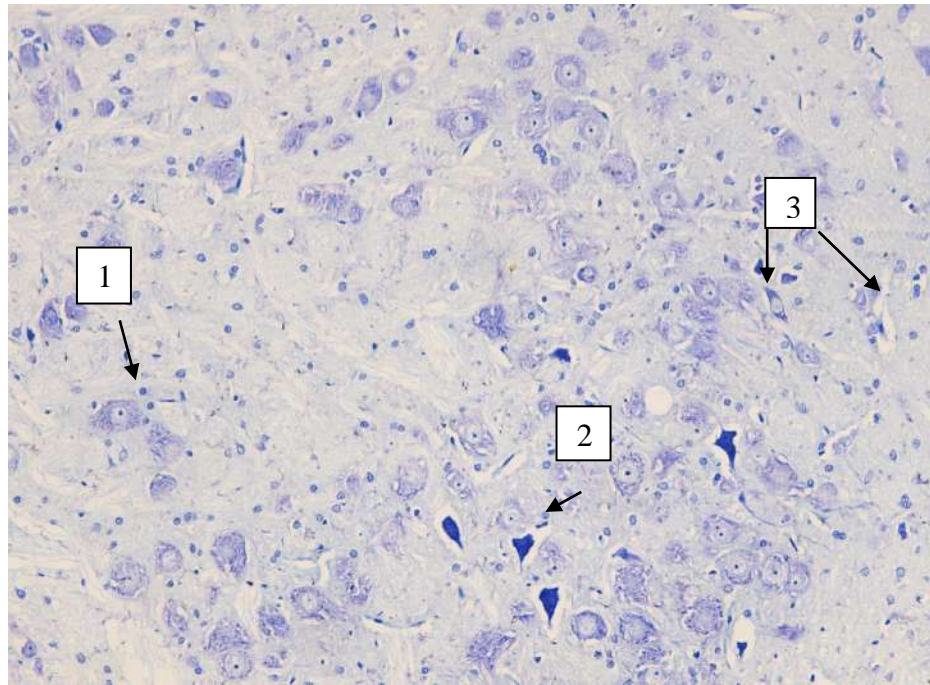


Рис. 6.16. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку псевдооперованого щура. Забарвлення толуїдиновий синій. $\times 400$. Гіпохромні нейрони (1), гіперхромні нейроцити (2), перичелюлярний та периваскулярний набряк (3).

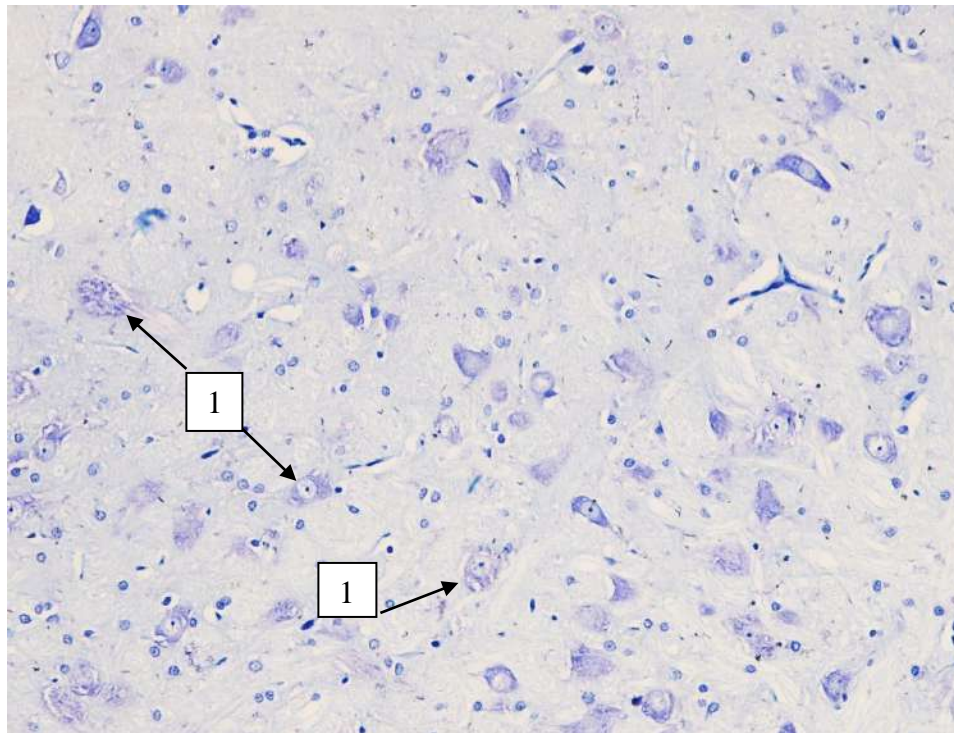


Рис. 6.17. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку псевдооперованого щура. Забарвлення толуїдиновий синій. $\times 400$. Гіпохромні нейрони з ознаками тигролізу (1).

При гістологічному дослідженні ділянки CA1 гіпокампу визначалась чітка пошарова будова. Зовнішній шар його – молекулярний, середній – пірамедалний, внутрішній – пірамідалний. В ділянці CA1 гіпокамп структурно представлений смугою щільно розташованих в 4 – 6 рядів нейронів із сферичним перикаріоном. (рис. 6.18).

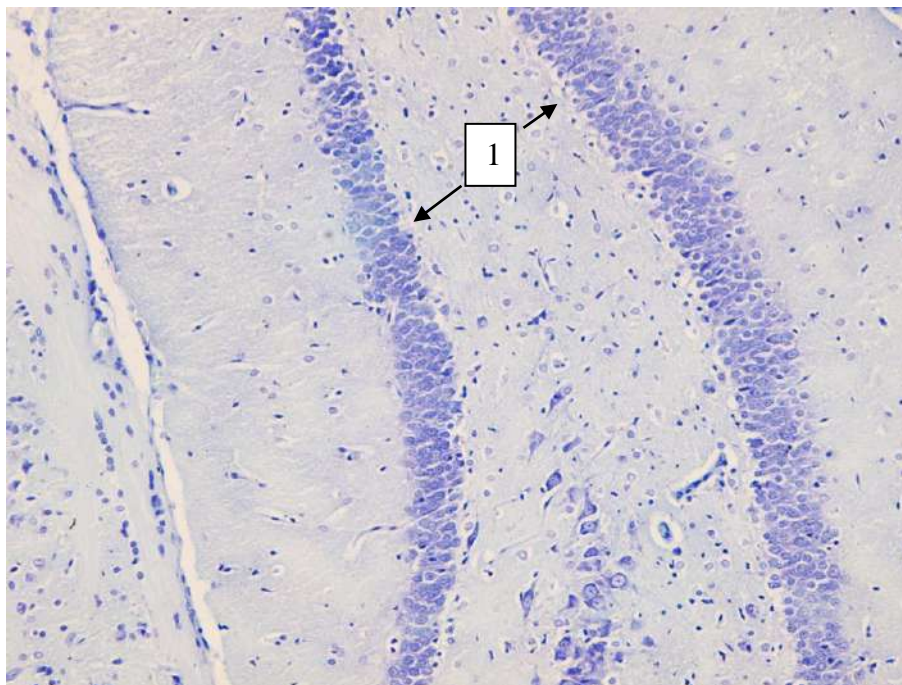


Рис. 6.18. Гістоструктура гіпокампу в ділянці CA1 псевдооперованого щура. Забарвлення толуїдиновий синій. $\times 200$. Смуга щільно розташованих нейронів (1).

Гістологічно у ділянках гіпокампа визначалось збільшення кількості гіпохромних нейроцитів. У цих клітинах спостерігається тигроліз, проявом якого є зменшення у розмірах грудочок тигроїдної речовини (субстанції Ніссля) або повним зникненням її на значних ділянках нейроплазми. Характерним для таких клітин було збільшення площі, заокруглення перикаріонів, потовщення та просвітлення відростків. Також визначається перицелюлярний та периваскулярний набряк. Світлі ядра гіпохромних нейронів виглядають збільшеними, іноді вони були ексцентрично розміщені. Ядерця характеризувались схильністю до гіперхромії. Кровоносні капіляри характеризувались

гетерогенністю просвітів та нерівномірним кровонаповненням. Мав місце незначний периваскулярний набряк (рис. 6.19, 6.20).

Упсевдооперованих щурів (трепанацийна травма без дії безпосередньо травматичного фактору (пострілу))тканини головного мозку характеризувались наявністю великої кількості судин малого калібру з дещо набряклим ендотелієм. Відносна площа судин мікроциркуляторного русла зони СА 1 гіпокампа складала при цьому $19,16 \pm 0,47\%$, а їх середній діаметр складав – артеріол – $21,16 \pm 0,48$ мкм, капілярів – $5,96 \pm 0,18$ мкм, венул – $25,84 \pm 0,42$ мкм.

Відносна площа судин мікроциркуляторного русла сенсо – моторної зони кори складала $20,18 \pm 0,49\%$, а їх середній діаметр складав – артеріол – $20,42 \pm 0,46$ мкм, капілярів – $5,89 \pm 0,16$ мкм, венул – $26,67 \pm 0,44$ мкм.

Кількість функціонуючих капілярів 1 мм^2 зони СА 1 гіпокампа складала $234,68 \pm 9,46$, сенсомоторної ділянки кори великих півкуль – $249,24 \pm 9,62$ в 1 мм^2 .

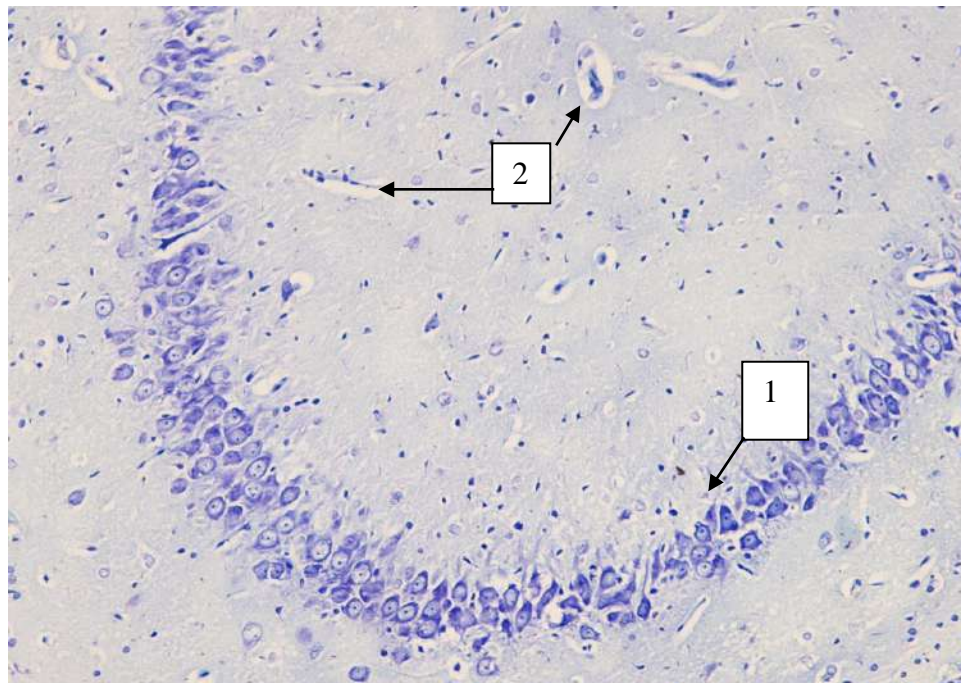


Рис. 6.19. Гістоструктура гіпокампу в ділянці СА1 псевдооперованого щура. Забарвлення толудідиновий синій. $\times 200$. Гіпохромні нейроцити гіпокампа з ознаками тигролізу (1). Периваскулярний та пери целюлярний набряк (2).

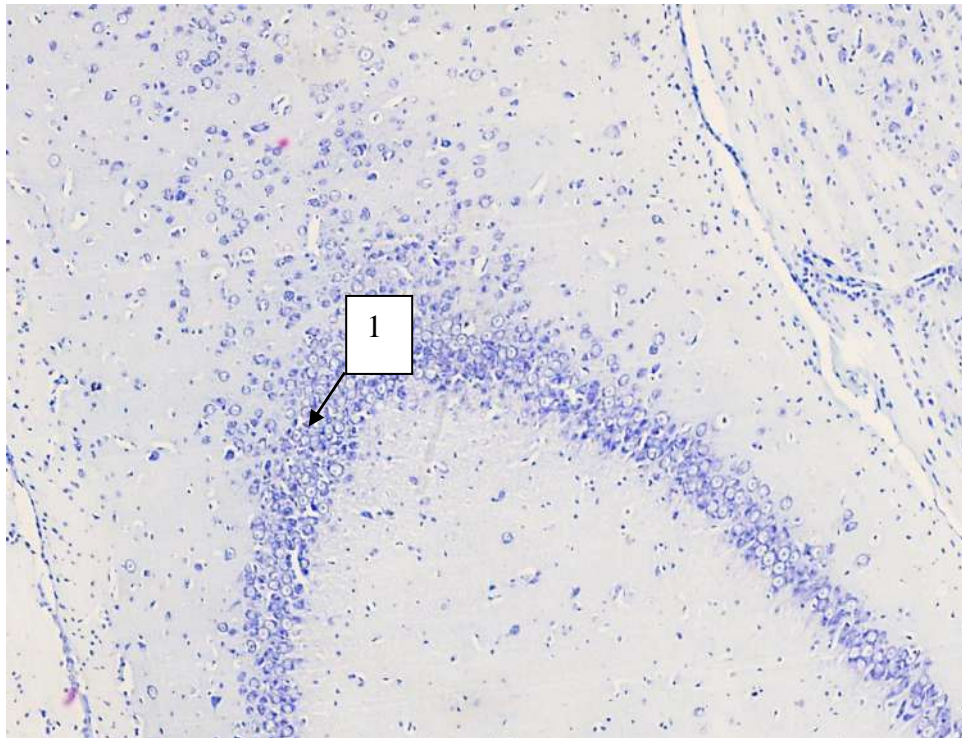


Рис. 6.20. Гістоструктура гіпокампу в ділянці СА1 псевдооперованого щура. Забарвлення толудиновою синію. $\times 100$. Гіпохромні нейроцити гіпокампа з ознаками тигролізу (1).

Відносна площа перичелюлярного та периваскулярного набряку складала лише $8,68 \pm 0,14\%$ у зоні СА 1 гіпокампа та $8,46 \pm 0,11\%$ у сенсо – моторній ділянці кори великої півкулі, що є свідченням відсутності патологічної реакції судин та нормальної проникності їх стінки в неушкодженій тканині головного мозку.

Кількість дегенеративно змінених нейроцитів у зоні СА 1 гіпокампа становила $9,6 \pm 0,82$ на 100 клітин, що складає $9,6\%$, у сенсо – моторній зоні кори – $8,7 \pm 0,74$ на 100 клітин, що складає $8,7\%$.

При макроскопічному дослідженні великих півкуль головного мозку щурів групи контрольної патології через 8 діб від початку моделювання черепно – мозкової травми виявлялось напруження мозкових оболонок та застійне повнокрів'я судин. Місцями судинні стінки були пошкоджені, проявами чого були периваскулярні крововиливи, субарахноїдальні та субдуральні крововиливи.

За результатами проведених гістологічних досліджень встановлено, що при моделюванні ЧМТ в сенсомоторній зоні та полях гіпокампа СА1 піддослідних тварин на першому плані постають значні порушення гемодинаміки. Порушення мікрогемодикуляції полягали в тому, що просвіти більшості капілярів були дилатовані та різко повнокровні, з еритростазами в судинах. Характерним було збільшення периваскулярних просторів. Ендотеліоцити судин мікроциркуляторного русла були набряклі, дистрофічно змінені. Також визначались суттєві зміни нейроцитів, проявами чого були порушення їх упорядкованого розташування та розвиток значних дегенеративних та некротичних змін. Ядра нейроцитів зазнавали пікнотичного зморщування, нейроплазма підлягала явищам гідропічної дистрофії з утворенням оптично порожніх пухирців. Значно збільшувалась кількість апоптотично змінених нейроцитів (рис. 6.21, 6.22, 6.23).

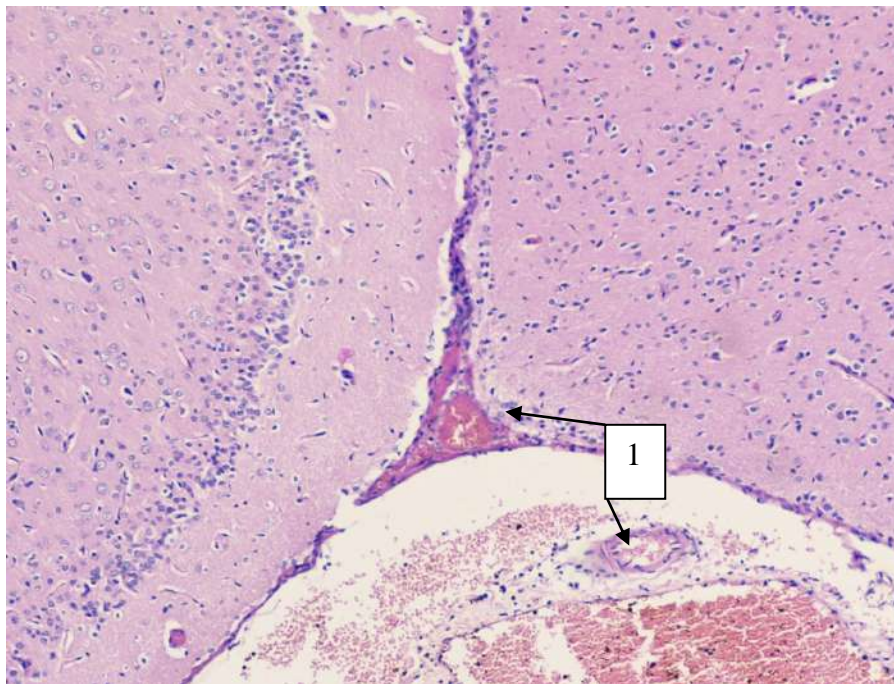


Рис. 6.21. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура групи контролю. Забарвлення гематоксилін – еозин. $\times 100$. Значні гемодинамічні порушення в сенсомоторній зоні та полях гіпокампа СА1 піддослідних тварин на 8 – му добу моделювання ЧМТ. Застійне повнокрів'я судин (1).

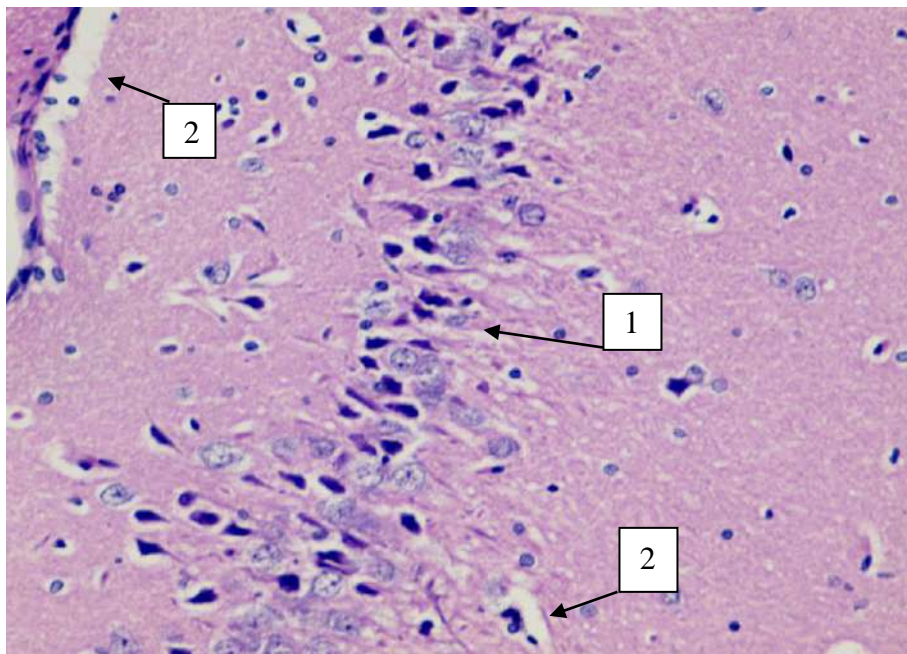


Рис. 6.22. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура групи контролю. Забарвлення гематоксилін – еозин. $\times 400$. Апоптоз і вакуольна дистрофія нейроцитів (1), виражений пери-целюлярний набряк (2) сенсомоторної зони кори великих півкуль щура на 8 – му добу моделювання ЧМТ.

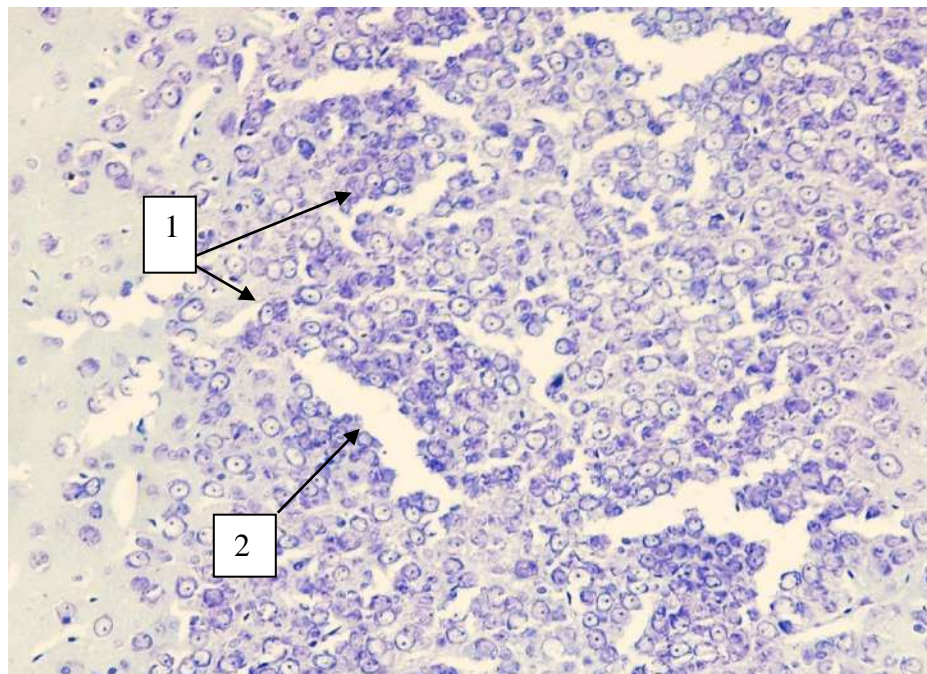


Рис. 6.23. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура групи контролю на 8 – му добу моделювання ЧМТ. Забарвлення толуїдиновий синій. $\times 200$. Апоптоз і вакуольна дистрофія нейроцитів (1), виражений перичелюлярний набряк гіпокампальної зони (2).

При гістологічній оцінці всієї досліджуваної сенсомоторної зони кори великих півкуль щурів групи контролю та окремих її шарів виявлене розширення товщини I шару клітин та всієї кори. Визначалось також зменшення щільності розташування нейронів через набряк. В нижніх відділах кори виявлялись нейрони з добре розвинутою цитоплазмою в початковій частині апікального дендрита, а також з вузьким обідком цитоплазми навколо ядра.

Рідко виявлялись більш великі нейроцити та двоядерцеві нейрони. Зменшувалась кількість нервових клітин з периферичним розташуванням ядерця, що свідчить про зниження активності сенсомоторної кори у тварин контрольної групи. Також визначались клітини-тіни та вогнища клітинного спустошення. Переважна більшість таких нейроцитів була гіперхромною без візуалізації ядер та ядерця та основних нейрональних структур, таких як дендрити та аксони. (рис. 6.24).

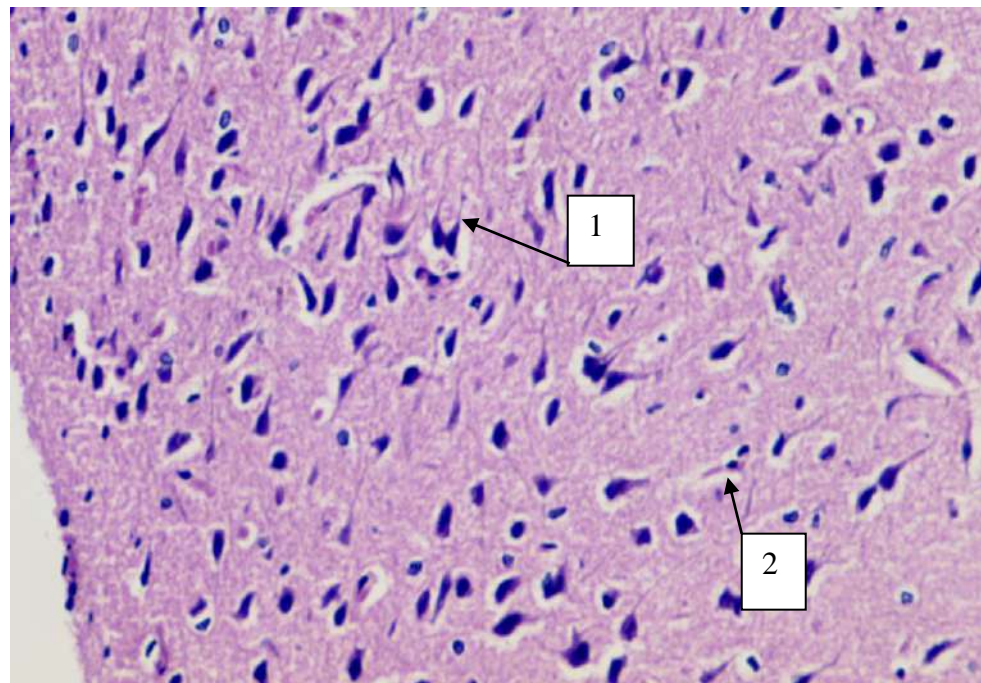


Рис. 6.24. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура групи контролю. Забарвлення гематоксилін – еозин. $\times 400$. Виражений гіперхроматоз нейроцитів без візуалізації всіх їх структур, вкорочення дендритів та аксонів (1), значний перицелюлярний набряк (2) сенсомоторної зони кори великих півкуль щура на 8 – му добу моделювання ЧМТ.

На 8-му добу моделювання ЧМТ чітко прослідковувались патоморфологічні зміни у нейроцитоархітектонічній організації у ділянці гіпокампу СА1 головного мозку. Навколо більшої частини нейроцитів СА1 гіпокампу щурів з ЧМТ визначався виразний перицелюлярний набряк. Мали місце поширені ділянки нейрональних розріджень, особливо гіпокампальних, з ознаками каріорексису в нейроцитах, цитолізу, каріолізису та вакуолізації як ядер так і цитоплазми (рис. 6.25).

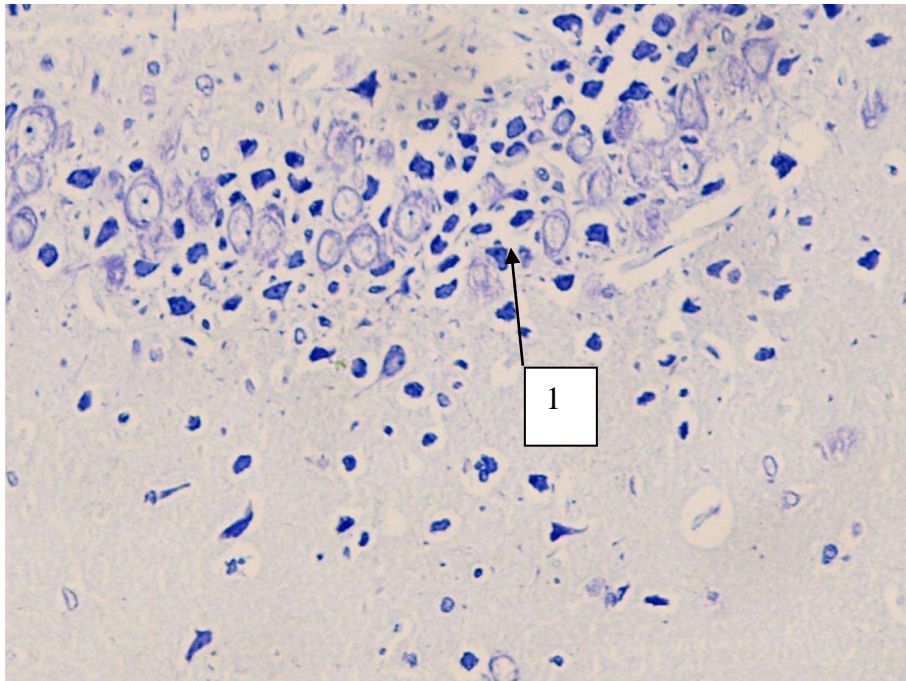


Рис. 6.25. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура групи контролю. Забарвлення толуїдиновий синій. $\times 400$.

Поширені ділянки нейрональних розріджень з ознаками каріорексису в нейроцитах, цитолізу, каріолізису та вакуолізації (1). Гіпокампальна зона СА1 щура на 8 – му добу моделювання ЧМТ.

Таким чином, глибина та характер ремоделювання структур сенсомоторної ділянки кори великих півкуль та гіпокампа СА1 перебувають у прямій залежності від травмуючої дії на головний мозок. Зменшення у піддослідних тварин кількості нормохромних нейронів, утворення великої кількості гіпохромних нейроцитів, а також гіперхромних нейронів із вираженими ознаками тигролізу в поєднанні з

порушеннями гемодинаміки та явищами перицелюлярного та периваскулярного набряку становлять морфологічну основу ремоделювання структур головного мозку при ЧМТ.

Так, у тварин контрольної групи мало місце переважання кількості дегенеруючих пірамідних нейронів над збереженими в сенсомоторній зоні кори великих півкуль та в СА1 зоні гіпокампа. При цьому в сенсомоторній зоні кори великих півкуль загибель нейронів проявлялась морфологічними ознаками каріопікноза, каріорексиса та цитопікноза з явищами цитоліза. У пірамідному шарі візуалізувались лише поодинокі збережені нейрони; більша частина клітин була представлена пікнотичними клітинами.

У гіпокампі в основному спостерігався цитолітичний тип загибелі нервових клітин. Морфологічні ознаки цитоліза свідчать про глибоке пошкодження всіх структур нейроцитів.

У групі контролю (ЧМТ+NaCl 0,9%) мали місце такі показники: тканини головного мозку характеризувались наявністю великої кількості судин малого калібру з набряклим ендотелієм. Судини були дилатовані, з явищами еритростазу, деякі тромбовані, з пошкодженими стінками.

Відносна площа судин мікроциркуляторного русла зони СА 1 гіпокампа складала $12,24 \pm 0,28\%$, а їх середній діаметр складав – артеріол – $26,32 \pm 0,52$ мкм, капілярів – $8,14 \pm 0,21$ мкм, венул – $32,64 \pm 0,54$ мкм.

Відносна площа судин мікроциркуляторного русла сенсо – моторної зони кори складала $14,28 \pm 0,48\%$, а їх середній діаметр складав – артеріол – $25,34 \pm 0,48$ мкм, капілярів – $7,92 \pm 0,19$ мкм, венул – $31,62 \pm 0,46$ мкм.

Кількість функціонуючих капілярів 1 мм^2 зони СА 1 гіпокампа складала $113,34 \pm 7,56$, сенсомоторної ділянки кори великих півкуль – $124,18 \pm 7,64$ в 1 мм^2 .

Відносна площа перицелюлярного та периваскулярного набряку складала $19,48 \pm 0,28\%$ у зоні СА 1 гіпокампа та $18,14 \pm 0,24\%$ у сенсо – моторній ділянці кори великих півкуль, що є свідченням вираженої патологічної реакції судин та

підвищеної проникності їх стінки в ушкодженій тканині головного мозку.

Кількість дегенеративно змінених нейроцитів у зоні СА 1 гіпокампа становила $38,4 \pm 1,72$ на 100 клітин, що складає 38,4 %, у сенсо – моторній зоні кори – $32,6 \pm 1,64$ на 100 клітин, що складає 32,6 %.

На 8-му добу моделювання ЧМТ у щурів, які щоденно отримували інфузію розчину амантадину сульфату, патоморфологічні зміни в структурах сенсомоторної кори та зоні СА1 гіпокампа головного мозку, порівняно з нелікованими тваринами, були виражені менш інтенсивно. Так, переважна кількість нейроцитів досліджуваних структур була нормохромною, мала чітко оконтуровані ядра, які містили одне, або два ядерця. Структура нейроцитів була візуально подібна до морфологічної картини псевдооперованих щурів.

Однак частіше, ніж в попередній групі, виявлялися більш великі нейроцити. В експерименті спостерігалось зменшення кількості двоядерцевих нейронів. Збільшувалась кількість нервових клітин з периферичним розташуванням ядерця, що свідчило про дещо більшу активність сенсомоторної кори у експериментальних тварин. Відповідно, число нервових клітин з центрально розташованим ядрцем зменшувалась. Дещо менше в експерименті визначались клітини-тіни та вогнища клітинного спустошення.

Ширина досліджуваної зони кори великих півкуль була збільшена в порівнянні з попередньою групою тварин.

Щільність нейронів була меншою у експериментальних щурів. Поряд зі збільшенням ядерця, в нейроцитах зменшувалась кількість додаткових ядерця. У експериментальних тварин чіткіше було видно межу між корою та підлеглою білою речовиною, краще виражена стратифікація клітинних шарів кори. Поряд із цим, тенденція до збільшення числа гліоцитів, що сполучалась з підвищенням кількості нейронів з периферичним розташуванням ядерця, свідчила про покращення функціональної активності нервових клітин (рис. 6.26, 6.27).

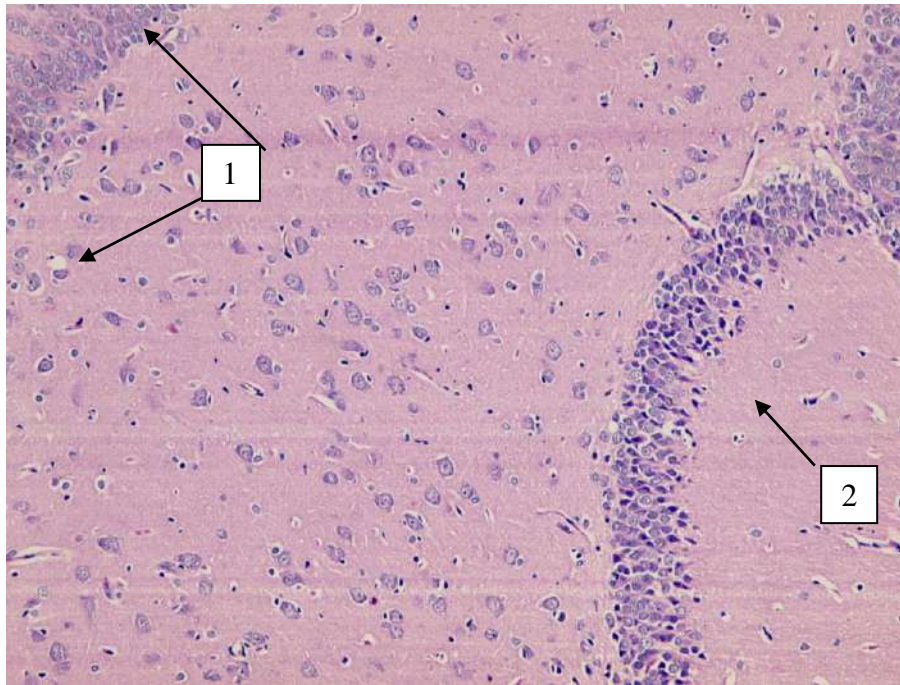


Рис. 6.26. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура з модельованою ЧМТ на тлі терапії амантадина сульфатом. Забарвлення гематоксилін – еозин. $\times 200$. Збережена гістоструктура нейроцитів сенсомоторної ділянки кори великої півкулі (1) та гіпокампальних структур (2) щура на 8 день спостереження.

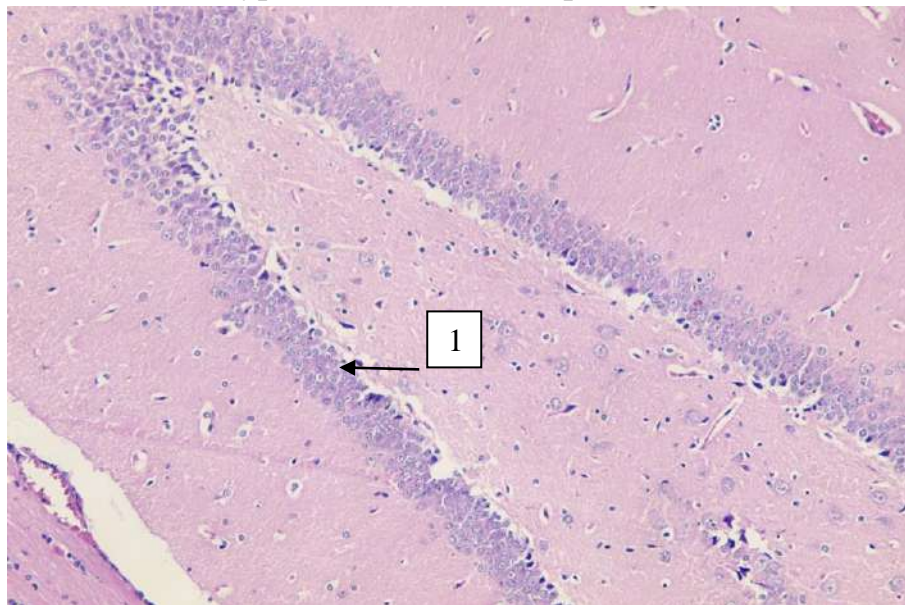


Рис. 6.27. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура з модельованою ЧМТ на тлі терапії амантадина сульфатом. Забарвлення гематоксилін – еозин. $\times 200$. Збережена гістоструктура нейроцитів (1) гіпокампальної ділянки головного мозку щура на 8 день спостереження.

Частина нейронів полів гіпокампа на 8-му добу модельної ЧМТ у щурів, які щоденно отримували інфузію розчину амантадину сульфату, перебували у стані периферичного або сегментарного тигролізу, гіпохромні нейрони характеризувались збільшенням площі ядер, в частині яких містились великі ядерця. У порівнянні з групою контролю визначалось зменшення площі ділянок нейрональних розріджень та збереження нормальної густини гіпокампальних нейронів. Кількість нейронів з ознаками каріорексису, каріолізису, ознаками цитолізу була значно меншою. Менш вираженими були явища периперіцелюлярного та периваскулярного набряку, судинні реакції - спостерігалось незначне збільшення діаметру капілярів та венозних судин, у просвіті їх були наявні залишки еритроцитів. (рис. 6.28, 6.29).

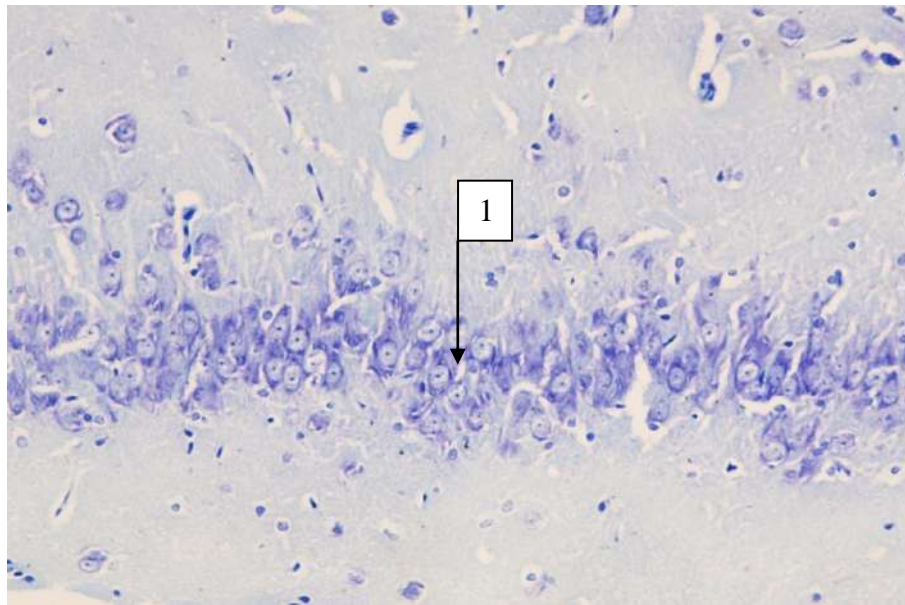


Рис. 6.28. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура з модельованою ЧМТ на тлі терапії амантадина сульфатом. Забарвлення толуїдиновим синім. $\times 400$. Помірно виражені ознаки каріорексису, каріолізису та цитолізу (1) нейронів зони CA1 гіпокампа щура на 8 деньспостереження.

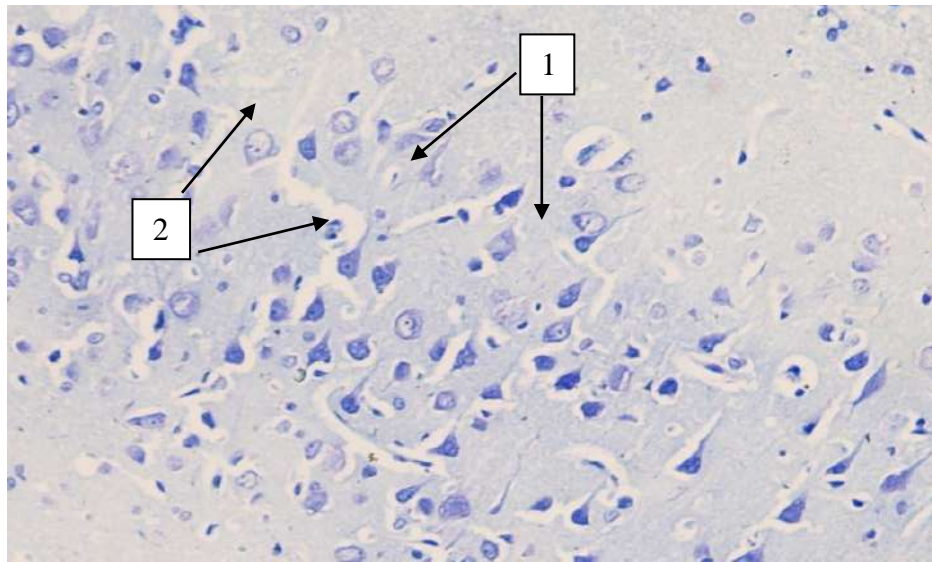


Рис. 6.29. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура з модельованою ЧМТ на тлі терапії амантадина сульфатом. Забарвлення толуїдиновим синім. $\times 400$. Помірно виражені ознаки каріорексису, каріолісису та цитолізу (1) нейронів сенсомоторної зони кори головного мозку щура на 8 день спостереження. Гіпохромні та гіперхромні нейроцити (2).

Водночас у меншій частині гістологічних препаратів виявлялись нейрони із ознаками апоптозу та мали місце ознаки перичелюлярного набряку. У таких нейроцитах визначались явища зморщування із проявами гіперхромії та відсутністю чітких контурів ядра (рис. 6.24, 6.25).

У групі тварин з модельованою ЧМТ, яка отримувала інфузію розчину амантадину сульфату мали місце такі показники: тканини головного мозку також характеризувались наявністю великої кількості судин малого калібру з помірно набряклим ендотелієм. Судини були дилатовані, з явищами еритростазу, але

тромбоз не визначався, пошкодження стінок було менш вираженим.

Відносна площа судин мікроциркуляторного русла зони СА 1 гіпокампа складала $15,12 \pm 0,32\%$, а їх середній діаметр складав – артеріол – $23,32 \pm 0,44$ мкм, капілярів – $6,57 \pm 0,32$ мкм, венул – $27,54 \pm 0,51$ мкм.

Відносна площа судин мікроциркуляторного русла сенсо – моторної зони кори складала $16,54 \pm 0,51\%$, а їх середній діаметр складав – артеріол – $23,04 \pm 0,46$ мкм, капілярів – $6,32 \pm 0,21$ мкм, венул – $28,38 \pm 0,47$ мкм.

Кількість функціонуючих капілярів 1 мм^2 зони СА 1 гіпокампа складала $164,28 \pm 8,62$, сенсомоторної ділянки кори великих півкуль – $172,46 \pm 8,89$ в 1 мм^2 .

Відносна площа перицелюлярного та периваскулярного набряку складала $15,34 \pm 0,16\%$ у зоні СА 1 гіпокампа та $14,94 \pm 0,14\%$ у сенсо – моторній ділянці кори великих півкуль, що є свідченням помірно вираженої патологічної реакції судин та підвищеної проникності їх стінки в ушкодженій тканині головного мозку.

Кількість дегенеративно змінених нейроцитів у зоні СА 1 гіпокампа становила $29,8 \pm 1,45$ на 100 клітин, що складає $29,8 \%$, у сенсо – моторній зоні кори – $26,9 \pm 1,52$ на 100 клітин, що складає $26,9 \%$.

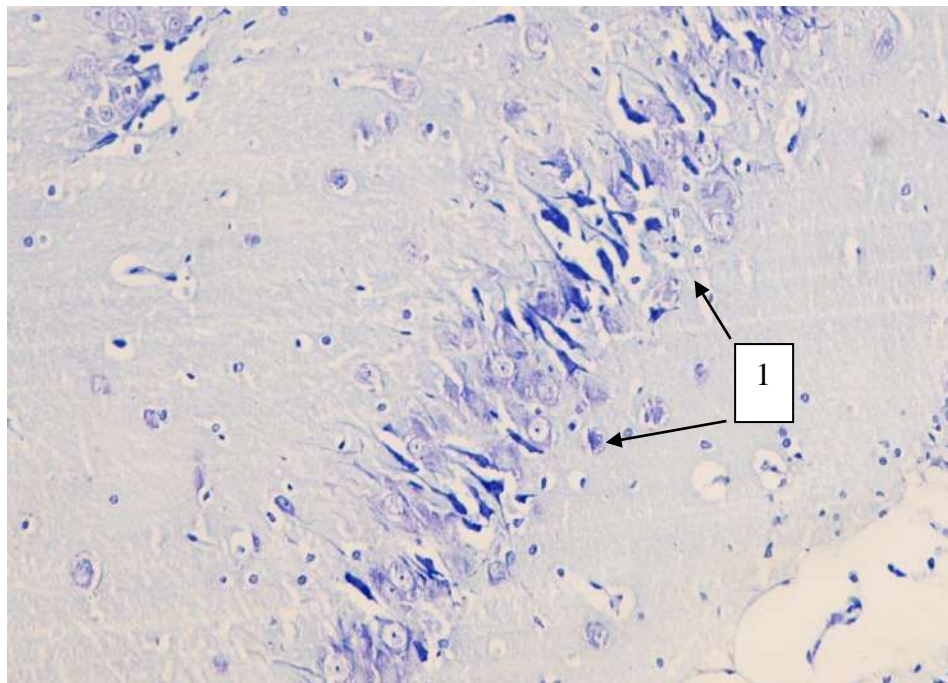


Рис. 6.30. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура з модельованою ЧМТ на тлі терапії амантадина сульфатом. Забарвлення толуїдиновим синім. $\times 400$. Помірний перицелюлярний набряк, ознаки апоптозу, каріорексису, каріолізису та цитолізу (1) нейронів гіпокампа щура на 8 день спостереження.

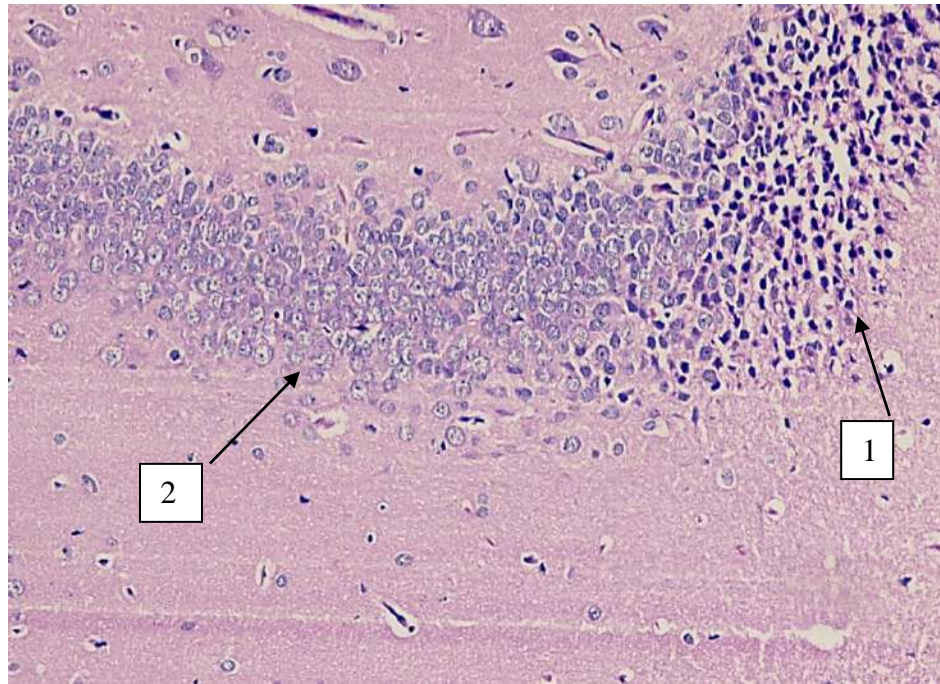


Рис. 6.31. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура з модельованою ЧМТ на тлі терапії амантадина сульфатом. Забарвлення гематоксилін – еозин. $\times 200$. Нейрони з ознаками апоптозу, каріорексису, каріолізису та цитолізу (1) та нормальні нейроцити (2) у гіпокампі щура на 8 день спостереження.

При мікроскопічному дослідженні гіпокампа зони СА1 щурів з модельованою ЧМТ, лікованих Адемолем, зберігалась пошарова будова його. У порівнянні з контрольною групою щурів, які не отримували лікування, у смужці щільно розташованих гіпокампальних нейронів визначалось зменшення площі ділянок нейрональних розріджень зі збереженням нормальної густини їх розташування (рис. 6.32, 6.33).

На 8-му добу моделювання ЧМТ у щурів, які щоденно отримували інфузію препарату Адемол, патоморфологічні зміни в структурах сенсомоторної кори та зоні СА1 гіпокампа головного мозку, порівняно з лікованими тваринами,

лікованими амантадином сульфатом, були виражені ще менш інтенсивно. Так, майже всі нейроцити досліджуваних структур були нормохромними, мали чітко оконтуровані ядра, які містили одне, або два ядерця. Структура нейроцитів була візуально подібна до морфологічної картини псевдооперованих щурів.

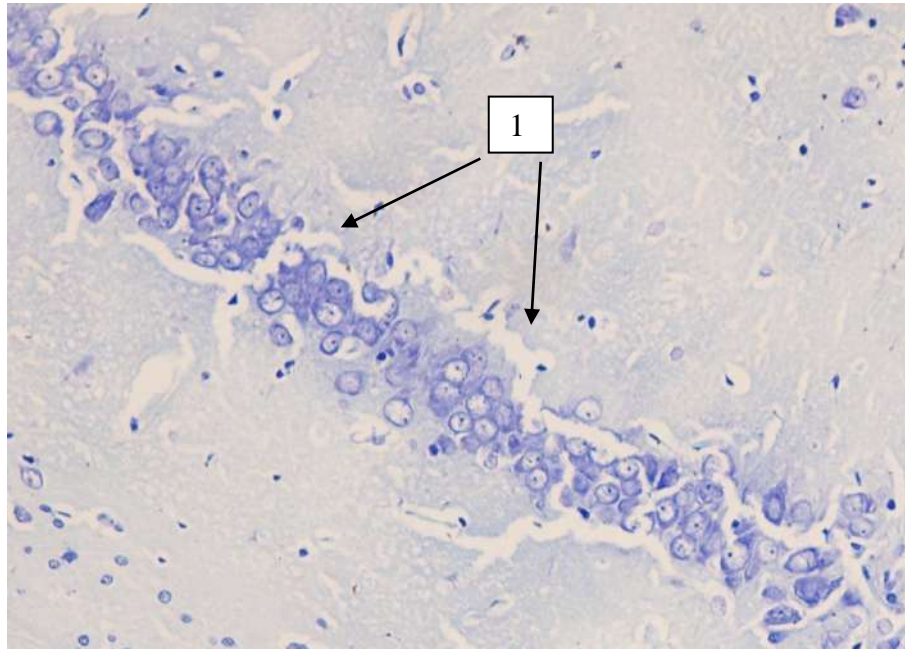


Рис. 6.32. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура з модельованою ЧМТ на тлі терапії амантадина сульфатом.

Забарвлення толуїдиновим синім. $\times 400$. Збережена гістологічна структура, незначні дистрофічні зміни нейронів (1) гіпокампа щура на 8 день спостереження.

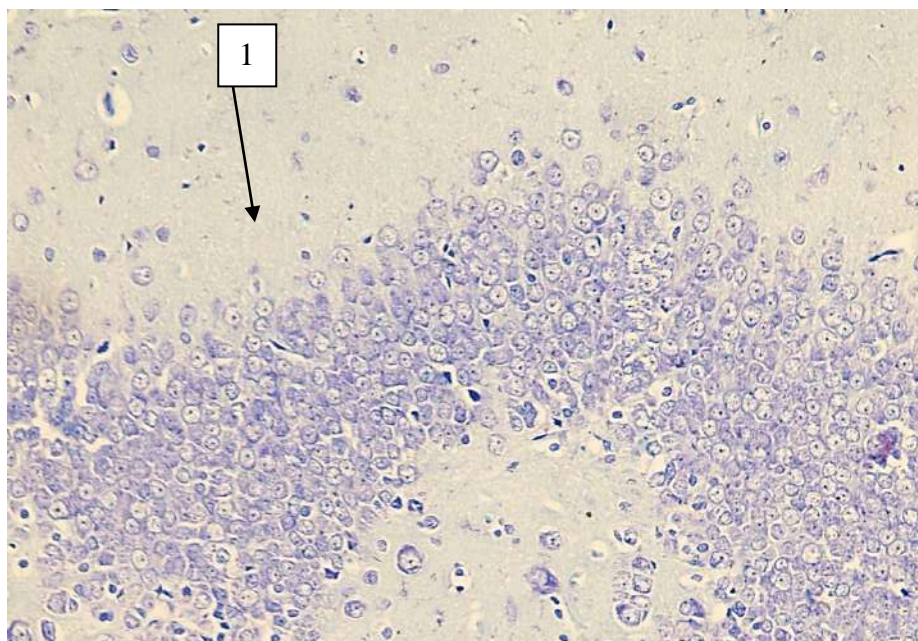


Рис. 6.33. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура з модельованою ЧМТ на тлі терапії амантадина сульфатом.

Забарвлення толуюдиновим синім. $\times 200$. Збережена гістологічна структура, незначні дистрофічні зміни нейронів та зменшення площі ділянок нейрональних розріджень зі збереженням нормальної густини їх розташування (1) у гіпокампі щура на 8 день спостереження.

У значній кількості виявлялися більш великі нейроцити. В експерименті спостерігалось зменшення кількості двохядерцевих нейронів. Збільшувалась кількість нервових клітин з периферичним розташуванням ядерця, що свідчило про дещо більшу активність сенсомоторної кори у експериментальних тварин. Відповідно, число нервових клітин з центрально розташованим ядерцем зменшувалась. Майже не визначались клітини-тіні та вогнища клітинного спустошення.

Ширина досліджуваної зони кори великих півкуль була збільшена в порівнянні з попередньою групою тварин.

Щільність нейронів була майже нормальною у щурів II експериментальної групи при застосуванні Адемолу. Чітко визначалась межа між корою та підлеглою білою речовиною, та краще була виражена стратифікація клітинних шарів кори. Поряд із цим, тенденція до збільшення числа гліоцитів, що сполучалась з підвищенням кількості нейронів з периферичним розташуванням ядерця, свідчила про покращення функціональної активності нервових клітин. (рис. 6.34, 6.35).

Частина нейроцитів полів гіпокампа на 8-му добу модельної ЧМТ у щурів, які щоденно отримували інфузію розчину Адемолу, перебували у стані периферичного або сегментарного тигролізу, гіпохромні нейроцити характеризувались збільшенням площі ядер, в частині яких містились великі ядерця. У порівнянні з попередньою групою визначалось ще більше зменшення площі ділянок нейрональних розріджень та збереження нормальної густини гіпокампальних нейронів. Кількість нейроцитів з ознаками каріорексису, каріолісису, ознаками цитолізу була значно меншою. Також значно менш вираженими були явища перицелюлярного та периваскулярного набряку та судинні реакції (рис. 6.36-6.38).

В групі тварин з модельованою ЧМТ, яка отримувала інфузію розчину адемолу мали місце такі показники: тканини головного мозку також характеризувались наявністю великої кількості судин малого калібру з дещо набряклим ендотелієм.

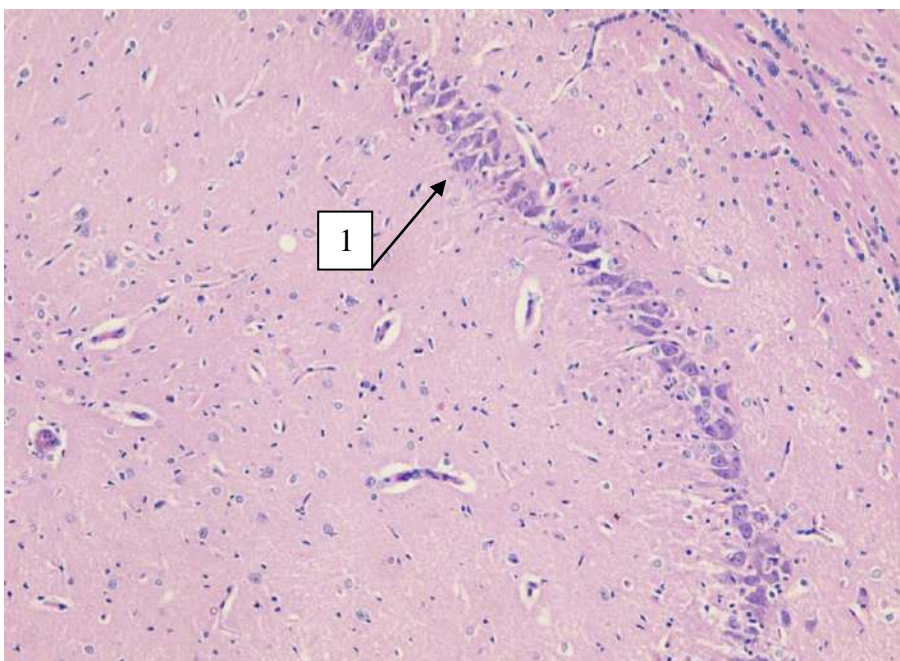


Рис. 6.34. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура з модельованою ЧМТ на тлі терапії Адемоллом. Забарвлення гематоксилін – еозин. $\times 200$. Збережена гістологічна структура, незначні дистрофічні зміни нейронів (1) сенсомоторної зони кори великої півкулі щура на 8 день спостереження.

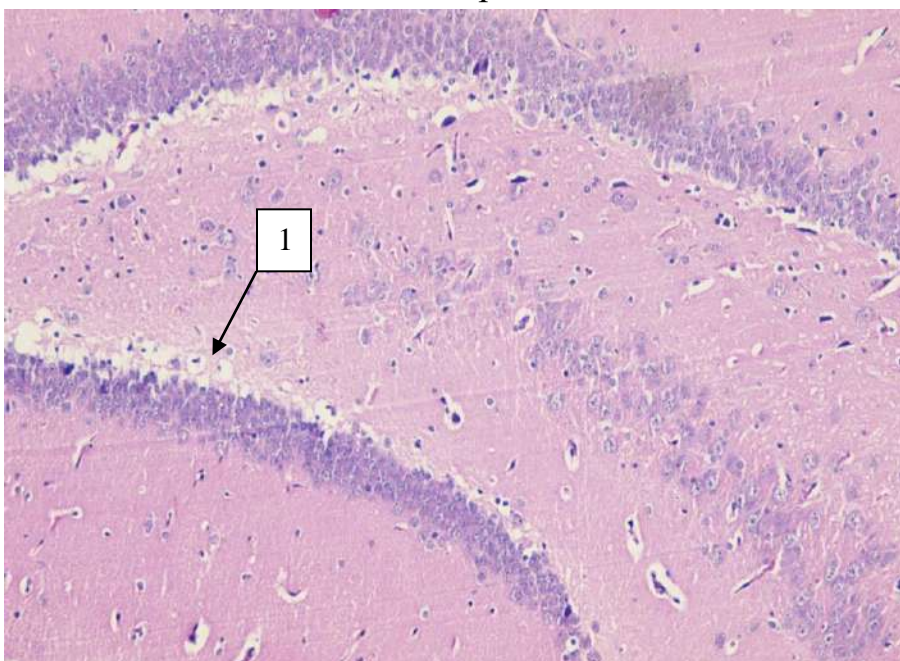


Рис. 6.35. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура з модельованою ЧМТ на тлі терапії Адемоллом. Забарвлення гематоксилін – еозин. $\times 200$. Збережена гістологічна структура, незначні дистрофічні зміни нейронів (1) гіпокампа щура на 8 день спостереження.

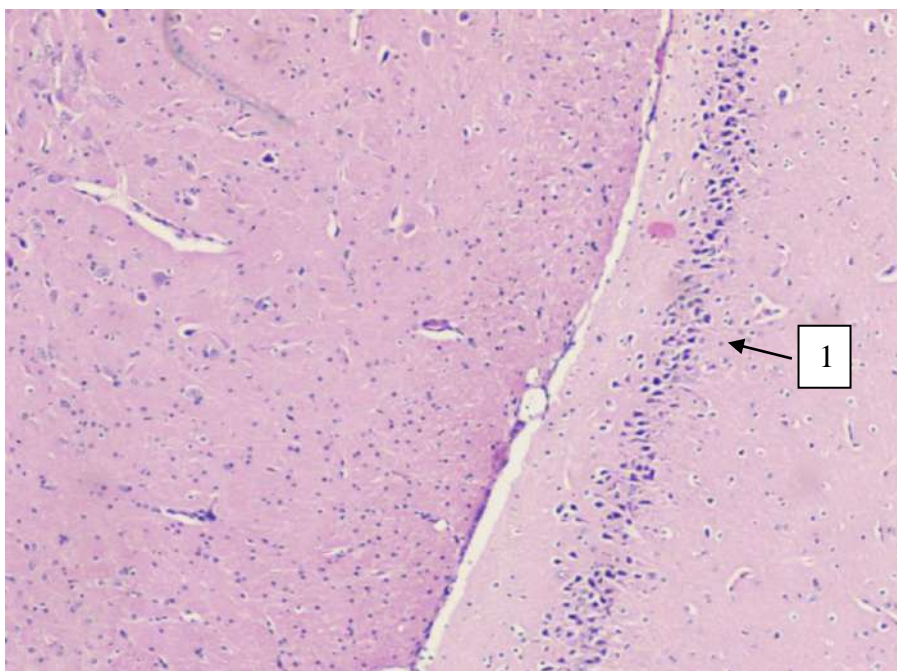


Рис. 6.36. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура з модельованою ЧМТ на тлі терапії Адемолом. Забарвлення гематоксилін – еозин. $\times 100$. Збережена гістологічна структура, незначні дистрофічні зміни нейронів (1) сенсомоторної зони кори великої півкулі щура на 8 день спостереження.

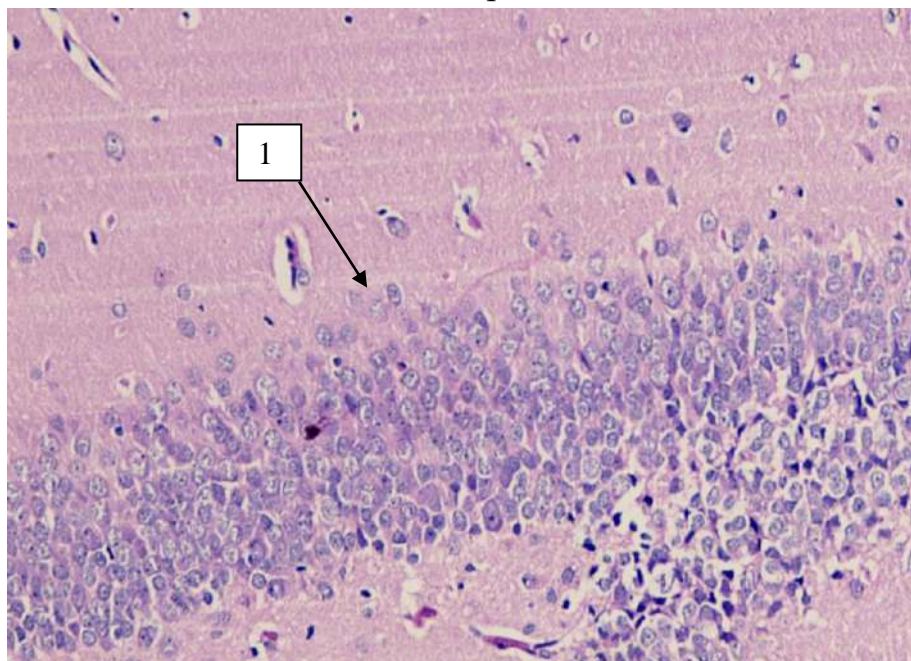


Рис. 6.37. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура з модельованою ЧМТ на тлі терапії Адемолом. Забарвлення гематоксилін – еозин. $\times 400$. Збережена гістологічна структура, незначні дистрофічні зміни нейронів (1) гіпокампа щура на 8 день спостереження.

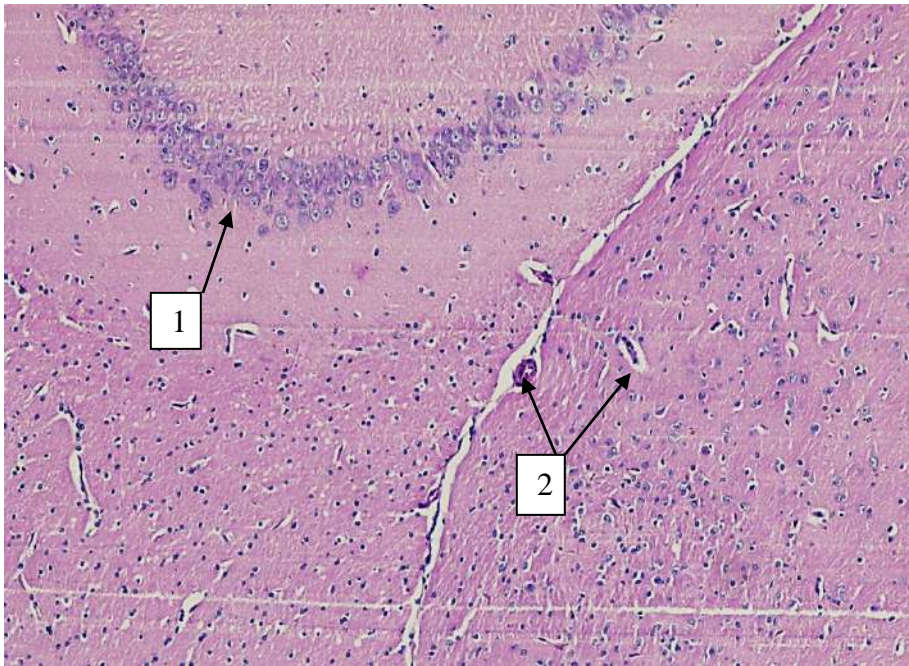


Рис. 6.38. Гістоструктура фрагменту сенсомоторної ділянки кори великої півкулі головного мозку щура з модельованою ЧМТ на тлі терапії Адемолем. Забарвлення гематоксилін – еозин. $\times 100$. Збережена гістологічна структура, незначні дистрофічні зміни нейронів (1), помірний перичелюлярний та периваскулярний набряк (2) гіпокампа на 8 день спостереження.

Судини були незначно дилатовані, з явищами еритростазу, але тромбоз та пошкодження стінок не визначались. Відносна площа судин мікроциркуляторного русла зони СА 1 гіпокампа складала $18,02 \pm 0,42\%$, а їх середній діаметр складав – артеріол – $22,08 \pm 0,41$ мкм, капілярів – $6,12 \pm 0,26$ мкм, венул – $27,54 \pm 0,51$ мкм.

Відносна площа судин мікроциркуляторного русла сенсо – моторної зони кори складала $18,54 \pm 0,52 \%$, а їх середній діаметр складав – артеріол – $22,04 \pm 0,44$ мкм, капілярів – $6,22 \pm 0,22$ мкм, венул – $26,84 \pm 0,43$ мкм.

Кількість функціонуючих капілярів 1 мм^2 зони СА 1 гіпокампа складала $208,32 \pm 9,66$, сенсомоторної ділянки кори великих півкуль – $212,08 \pm 9,23$ в 1 мм^2 .

Відносна площа перичелюлярного та периваскулярного набряку складала $12,11 \pm 0,14\%$ у зоні СА 1 гіпокампа та $11,74 \pm 0,12\%$ у сенсо – моторній ділянці кори великих півкуль, що є свідченням незначно вираженої патологічної реакції судин та майже нормальної проникності їх стінки в ушкодженій тканині головного мозку.

Таблиця 6.3 Зміни морфологічних показників у різних груп експериментальних тварин при ЧМТ

| Показники \ Групи | Псевдооперовані щури | | ЧМТ + NaCl (група контролю) | | ЧМТ+амантадин сульфат | | ЧМТ+адемомол | |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | Зона СА1 гіп. | СМД | Зона СА1 гіп. | СМД | Зона СА1 гіп. | СМД | Зона СА1 гіп | СМД |
| Відносна площа перичелюлярного та периваскулярного набряку, % | 8,68± 0,14 | 8,46± 0,11 | 19,48± 0,28# | 18,14± 0,24# | 15,34± 0,16# | 14,94± 0,14# | 12,11± 0,14# | 11,74± 0,12# |
| Відносна площа судин мікроциркуляторного русла, % | 19,16± 0,47 | 20,18± 0,49 | 12,24 ± 0,28# | 14,28 ± 0,48# | 15,12 ± 0,32# | 16,54 ± 0,51# | 18,02 ± 0,42* | 18,54± 0,52* |
| Середній діаметр артеріол, мкм | 21,16± 0,48 | 20,42± 0,46 | 26,32± 0,52# | 25,34± 0,48# | 23,32± 0,44* | 23,04 ± 0,46* | 22,08 ± 0,41* | 22,04 ± 0,44* |
| Середній діаметр капілярів, мкм | 5,96± 0,18 | 5,89± 0,16 | 8,14± 0,21# | 7,92± 0,19# | 6,57 ± 0,32* | 6,32 ± 0,21* | 6,12 ± 0,26* | 6,22 ± 0,22* |
| Середній діаметр венул, мкм | 25,84± 0,42 | 26,67± 0,44 | 32,64± 0,54# | 31,62± 0,46# | 27,54± 0,51* | 28,38± 0,47* | 27,54± 0,51* | 26,84± 0,43* |
| Кількість функціонуючих капілярів в 1 мм ² | 234,68± 9,46 | 249,24± 9,62 | 113,34± 7,56# | 124,18± 7,64# | 164,28± 8,62# | 172,46± 8,89# | 208,32± 9,66* | 212,08± 9,23* |
| Кількість дегенеративно змінених нейронів на 100 клітин та процентне співвідношення дегенеративно змінених та нормальних нейронів | 9,6± 0,82 9,6 % | 8,7± 0,74 8,7 % | 38,4± 1,72# 38,4% | 32,6± 1,64# 32,6% | 29,8± 1,45# 29,8% | 26,9± 1,52# 26,9% | 22,7± 1,32# 22,7% | 21,2 ± 1,28# 21,2% |

Примітка. * - p< 0,05 відносно групи контролю (ЧМТ +0,9% NaCl); # - p< 0,05 відносно групи псевдооперованих щурів.

Кількість дегенеративно змінених нейронів у зоні СА 1 гіпокампа становила $22,7 \pm 1,32$ на 100 клітин, що складає 22,7 %, у сенсо – моторній зоні кори – $21,2 \pm 1,28$ на 100 клітин, що складає 21,2 %.

В результаті проведеного дослідження встановлено, що мало місце прогресуюче покращення усіх показників у групах тварин з амантадином сульфатом та адемолом, які на кінець досліду були вірогідно більшими від показників у щурів контрольної групи, але меншими від показників у псевдооперованих щурів.

Так, відносна площа перицелюлярного та периваскулярного набряку в зоні СА 1 гіпокампа в групі контролю (ЧМТ +NaCl) була на 55,5 % більша, ніж в у групі псевдооперованих щурів (показник більший у 2,24 рази), у групі щурів з амантадином сульфатом цей показник був на 44,5% більший (різниця в 1,77 разів), а у групі щурів з адемолом цей показник був на 28,4 % більший (різниця у 1,4 рази), що є достовірним відносно групи псевдооперованих щурів. Показники відносної площі перицелюлярного та периваскулярного набряку в сенсомоторній зоні змінювались відповідно для контролю, амантадину та адемолу на 54,4%, 44,4%, 27,9% (в 2,14 разів; 1,77 разів; 1,4 рази), що також є достовірною різницею відносно групи псевдооперованих щурів.

При цьому слід відмітити, що лікувальне введення тваринам амантадину сульфату та адемолу, сприяло зменшенню рівнів перицелюлярного та периваскулярного набряку в зоні СА 1 гіпокампа та сенсомоторної зони кори великих півкуль в порівнянні з цим показником у тварин контрольної групи, хоча вони і залишались гіршими відносно даних у групі псевдооперованих щурів.

Відносна площа судин мікроциркуляторного русла зоні СА 1 гіпокампа в групі контролю була на 36,2 % менша, ніж в у групі псевдооперованих щурів (показник менший у 1,57 разів) – різниця достовірна, у групі щурів з амантадином сульфатом цей показник був на 21 % менший (різниця в 1,27 разів) – різниця достовірна відносно групи псевдооперованих щурів, у групі щурів з адемолом цей

показник був на 9,4 % менший (різниця у 1,06 рази) відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Показники відносної площі судин мікроциркуляторного русла в сенсо – моторній зоні змінювались відповідно для контрольної групи та груп з амантадином сульфатом та адемолом на 30 %, 19,5 %, 18,1% (відповідно в 1,4 рази; 1,22 рази; 1,1 рази).

Середній діаметр артеріол в зоні СА 1 гіпокампа в групі контролю був на 20 % більший, ніж в у групі псевдооперованих щурів (показник менший у 1,24 рази) – різниця є достовірною відносно групи псевдооперованих щурів, у групі щурів з амантадином сульфатом цей показник був на 10 % більший (різниця в 1,1 разів), а у групі щурів з адемолом цей показник був на 9,6 % більший (різниця у 1,04 рази) відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Показники середнього діаметру артеріол в сенсо – моторній зоні змінювались відповідно для контролю, амантадину сульфату та адемолу на 19,4 %, 21,4 %, 8,2% (відповідно в 1,24 рази; 1,13 разів; 1,08 разів).

Середній діаметр капілярів в зоні СА 1 гіпокампа в групі контролю був на 26,8 % більший, ніж в у групі псевдооперованих щурів (показник більший у 1,37 разів) – різниця є достовірною відносно групи псевдооперованих щурів. При цьому, у групі щурів з амантадином сульфату цей показник був на 9,3 % більший (різниця в 1,1 разів), а у групі щурів з адемолом цей показник був на 9,7 % більший (різниця у 1,02 рази) відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Показники середнього діаметру капілярів в сенсомоторній зоні змінювались відповідно для контролю, амантадину сульфату та адемолу на 25,7 %, 9,3 %, 9,1 % (в 1,34 рази; 1,07 разів; 1,06 разів).

Середній діаметр венул в зоні СА 1 гіпокампа в групі контролю був на 21 % більший, ніж в у групі псевдооперованих щурів (показник більший у 1,26 разів) – різниця є достовірною відносно групи псевдооперованих щурів. При цьому у групі щурів з амантадином сульфату цей показник був на 9,4 % більший (різниця в 1,1

разів), а у групі щурів з адемолом цей показник був на 9 % більший (різниця у 1,09 разів) відносно групи контролю($p<0,05$).

Показники середнього діаметру венул в сенсомоторній зоні змінювались відповідно для контролю, амантадину сульфату та адемолу на 16 %, 9,3 %, 9,9 % (відповідно в 1,19 разів; 1,06 разів; 1,01 разів).

Показник кількості функціонуючих капілярів в зоні СА 1 гіпокампа в групі контролю був на 51,7 % менший, ніж у групі псевдооперованих щурів (показник менший у 2,07 разів). При цьому в групі щурів з амантадином сульфату цей показник був на 30 % менший (різниця в 1,43 рази) відносно групи псевдооперованих щурів($p<0,05$). В групі щурів з адемолом цей показник був на 22 % менший (різниця в 0,89 разів) відносно групи контролю($p<0,05$).

Показники кількості функціонуючих капілярів в сенсомоторній зоні змінювались відповідно для групи контролю, амантадину сульфату та адемолу на 19,4 %, 21,4 %, 8,2% (відповідно в 2 рази; 1,45 разів; 1,17 разів).

Показник кількості дегенеративно змінених нейронів в зоні СА 1 гіпокампа в групі контролю був на 85 % більший, ніж в у групі псевдооперованих щурів (показник більший у 3,7 разів). Так, для групи щурів з амантадином сульфату цей показник був на 64,4 % більший (різниця в 3 рази), а для групи щурів з адемолом показник був на 57,8 % більший (різниця у 2,4 рази) відносно групи псевдооперованих щурів($p<0,05$).

Показники кількості дегенеративно змінених нейронів в сенсомоторній зоні змінювались відповідно для групи контролю, амантадину сульфату та адемолу на 73 %, 68 %, 59 % (відповідно в 3,7 разів; 3 рази; 2,4 рази).

Таким чином, проведені гістологічні дослідження сенсомоторної ділянки кори головного мозку та гіпокампа зони СА1 щурів з модельованою ЧМТ свідчать про ефективність використання амантадину сульфату та Адемолу та сприяють зниженню рівня дистрофічно – некротичних змін та значно активують регенераторні процеси.

Порівняно з іншими клітинними елементами мозку, які неминуче страждають від порушень мозкового кровообігу внаслідок ЧМТ, нейрони гіпокампа у зубчастій звивині в полі СА1 виявляють особливу вразливість. Стійкішими виявляються нейрони III, V і VI шарів сенсомоторної зони кори великих півкуль на фоні інфузії адемолу.

Перелік публікацій, в яких висвітлено основні матеріали даного розділу: [63, 88, 91, 292, 393, 443, 444, 446]

РОЗДІЛ 7

ОЦІНКА МОЛЕКУЛЯРНОЇ МІШЕНІ АДЕМОЛУ МЕТОДАМИ ХЕМОІНФОРМАТИКИ ЗА КРИТЕРІЯМИ ЛІКОПОДІБНОСТІ БІОДОСТУПНОСТІ ТА МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКІНГУ

В умовах ЧМТ, за рахунок об'єму крові, який потрапив у субарахноїдальний простір та зменшенням сталого об'єму черепної коробки за рахунок зміщення кісткових уламків, або наявності гематом, зростають абсолютні значення внутрішньочерепного тиску (ВЧТ), що супроводжується дестабілізацією у системі ауторегуляції кровообігу і призводить до погіршення кровобігу в інтрацеребральних судинах, які забезпечують трофіку мозку. Окрім цього, порушується аксональний транспорт внаслідок зовнішнього механічного тиску на кору мозку, з наступним її здавленням. Все це призводить до надмірної активації NMDA-рецепторів та запуску глутамат-кальцієвого патобіохімічного каскаду – основних механізмів апоптотичної та некробіотичної смерті нейронів. Як наслідок формується деструктивно-дегенеративне вогнище, що спричиняє розвиток патологічно зміненого неврологічного статусу хворих. Отже, глутаматна ексайтотоксичність та внутрішньочерпна гіпертензія, являють собою потенційні мішені щодо можливих розробок патогенетичної терапії ішемічних уражень мозку, зокрема тих, що асоційовані із високими значеннями ВЧТ. Бажаним фармакологічним ефектом для препарату подібної спрямованості дії є його спроможність знижувати підвищений ВЧТ. Нині, серед прямих блокаторів NMDA-рецепторів відомі препарати, для яких експериментально доведено наявність нейропротекторної активності в умовах ішемії мозку на тлі підвищеного ВЧТ. Мова йде перш за все про похідні адамантану: мемантин, амантадину гідрохлорид або сульфат. З метою оптимізації фармакотерапії синдрому ВЧТ, нашу увагу привернуло одне із похідних адамантану – 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид під умовною назвою

адемом, якому притаманний нейропротекторний ефект та спроможність знижувати ВЧТ [162]. Спроможність адемола корегувати підвищені значення ВЧТ, можна пояснити специфічними для нього структурними та рецепторними особливостями. Молекула 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемола) в своїй будові містить адамантанове ядро подібно до амантадину, а з іншого боку має структурну подібність до кардіонеселективних β -адреноблокаторів пропранололу та тімололу (рис. 7.1), за рахунок пропанамінового фармакофору, характерного для всіх β -адреноблокаторів із феноксипропаноламіною будовою. Блокада β -адренорецепторів судинних сплеть шлуночків м'якої мозкової оболонки призводить до зниження ВЧТ за рахунок зменшення продукції ліквору. Наявність лікворогіпотензивного ефекту адемола ми пов'язуємо саме з β -адреноблокувальними властивостями. Підґрунтя цього твердження доповнюється також тим фактом, що адемом має певні структурні тотожності з пропранололом [13]. Причому ця дія реалізується не тільки за рахунок можливої блокади β -адренорецепторів, а й внаслідок активуючого впливу β -адреноблокаторів на функціонування 5-гідрокситриптамінових рецепторів (5-ГТ) венул синусів мозкової оболонки [402]. Цей механізм лежить в основі покращення ліквородинаміки по ліквороносним шляхам, резорбції спинномозкової рідини, нормалізації балансу між продукцією та зворотнім всмоктуванням ліквору та відтоком крові через синуси у яремні вени, що сприяє зниженню ВЧТ. Враховуючи вищенаведені факти, доцільно зробити припущення, що лікворогіпотензивна дія адемола, як і у β -адреноблокаторів також може бути пов'язана із його впливом на 5-ГТ рецептори венул мозку, що потребує подальших досліджень.

Отже, головну робочу гіпотезу правдоподібно сформулювати таким чином, що завдяки структурній спорідненості до молекул β -блокаторів, зокрема наявності пропанамінового фармакофору, адемом здатен одночасно із його модулюючим впливом на НМДА-рецептори, проявляти властивості неселективного блокатора β -

адренорецепторів, та може знижувати підвищений ВЧТ. Для потенційного нейропротектора, який проявляє лікворогіпотензивну дію обов'язковим є його добра проникність через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ), що зрозуміло та логічно, оскільки це забезпечує доставку препарату безпосередньо до мішені та є запорукою його зв'язування із відповідними рецепторами (NMDA-, β -, або 5-ГТ-рецептори). Добра проникність через ГЕБ, головним чином пов'язана із задовільною лікоподібністю хімічної речовини, що і являється однією із головних квантово-хімічних характеристик останнього.

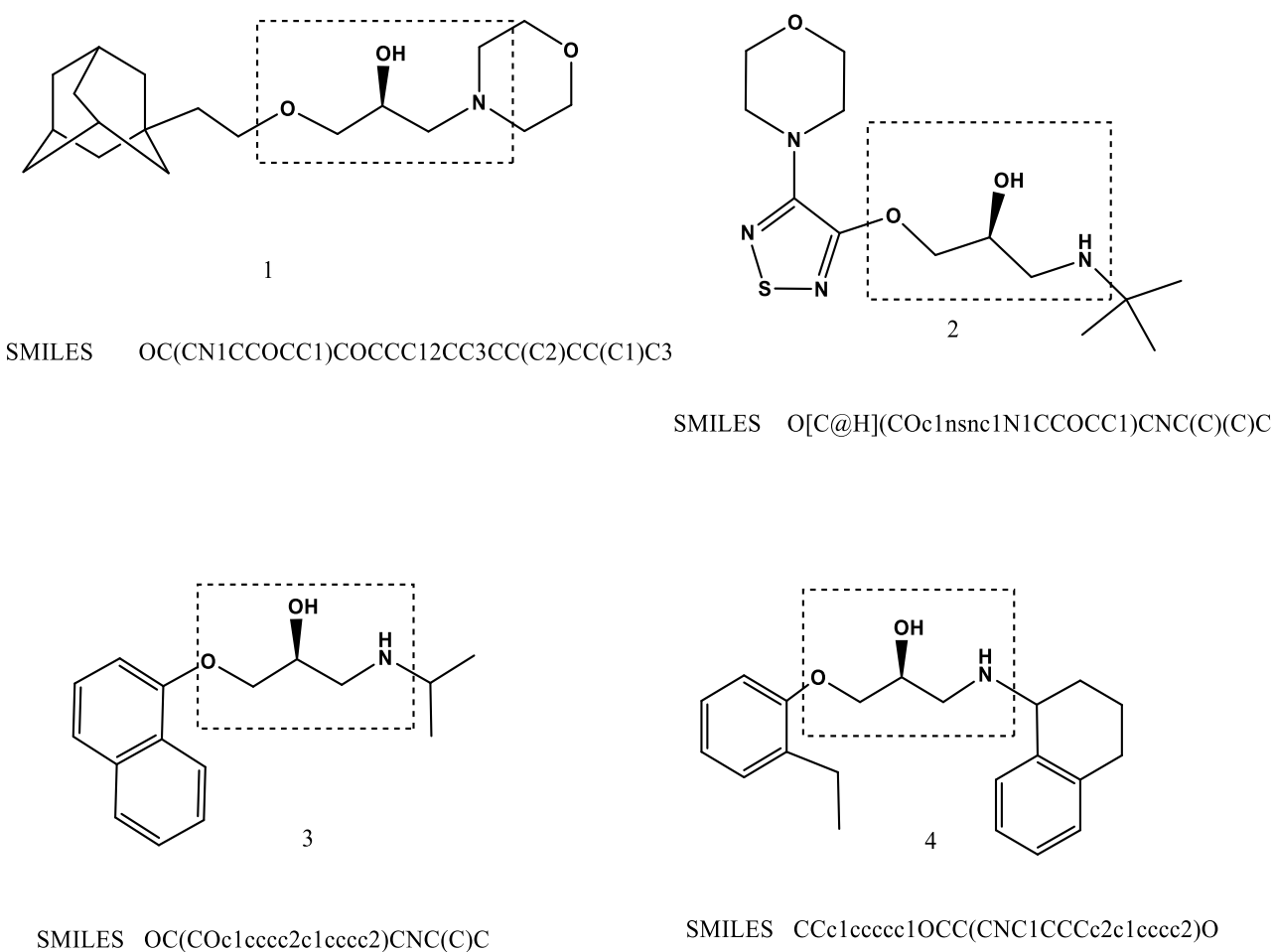


Рис. 7.1. Структурна подібність органічних основ адемола (1) та відомих β -блокаторів – тімолола (2), *D,L*-пропронолола (3), та селективного β_3 -адреноблокатора SR 59230A (4) за пропанаминовим фармакофором (виділено пунктиром) та їх SMILE (simplifiedmolecular-inputline-entriysystem)-коди.


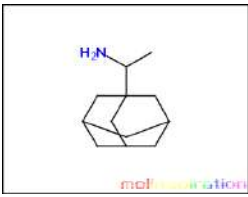
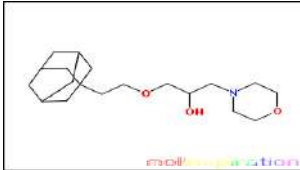
Метою даного розділу було обґрунтувати внутрішньовенне застосування адемолу методами хемо- та біоінформатики, виявити здатність адемолу блокувати β -адренорецептори, а також за критеріями лікоподібності та біодоступності оцінити можливість його проходження через ГЕБ порівняно із еталонними β -адреноблокаторами (структурними аналогами за пропанаміновим фармакофором).

В нашій роботі на першому етапі для оцінки «лікоподібності» адемолу (1) до відомих β -блокаторів – тімололу (2), пропранололу (3), та селективного β_3 -адреноблокатора SR 59230A (4) було використано комплекс розрахункових підходів хемоінформатики *insilico*, зокрема *Molinspirationsoftware*, SIB Swiss Institute of Bioinformatics. Зокрема, молекулярна маса адемолу не перевищує 500, середній показник ліпофільності розрахований за допомогою програмного комплексу [402], знаходиться для приведених сполук в прийнятному діапазоні (табл.1). Значення ліофільності розраховується шляхом виявлення значення LogP. Логарифм P - це коефіцієнт розподілу незаряджених форм субстрату і є шукана величина, стандартно позначається як logP. Для адемолу його величина дорівнює 2,736, що вище ніж у римантадину (2,456), однак нижче ніж у пропранололу (2,967), див. табл. 7.1.

Крім того, за допомогою тих же продуктів визначено TPSA (загальну площу полярних поверхонь молекул), яка розраховується на основі методики, опублікованої Ertl *et al* [186] у вигляді внесків суми площин атомів O- та N- т. ін., у складі функціональних груп полярних фрагментів. Відомо, що TPSA є дуже ефективним дескриптором, який дозволяє передбачити абсорбцію лікарського засобу, біодоступність і проникність крізь ГЕБ [394.]. В цілому такий підхід дає змогу рутинним шляхом оцінити лікоподібність (*druglikeness*) нових структур, порівнюючи нові із вже відомими молекулами. Так, на рис. 7.2 представлені пелюсткові діаграми адемолу та препаратів порівняння за розрахованими нами *insilico* молекулярними дескрипторами ліпофільності (LIPO), розміру молекули (SIZE), полярності (POLAR), розчинності (INSOLU), коефіцієнту ненасиченості молекул (INSATU), гнучкості (FLEX) тощо. Таким чином, отримані дані *insilico*

демонструють високу біодоступність адемолу та препаратів порівняння, що відповідає 100 та 90% абсорбції, отриманим для пропранолола та тімолола відповідно в експериментах *invivo* (табл. 7.2).

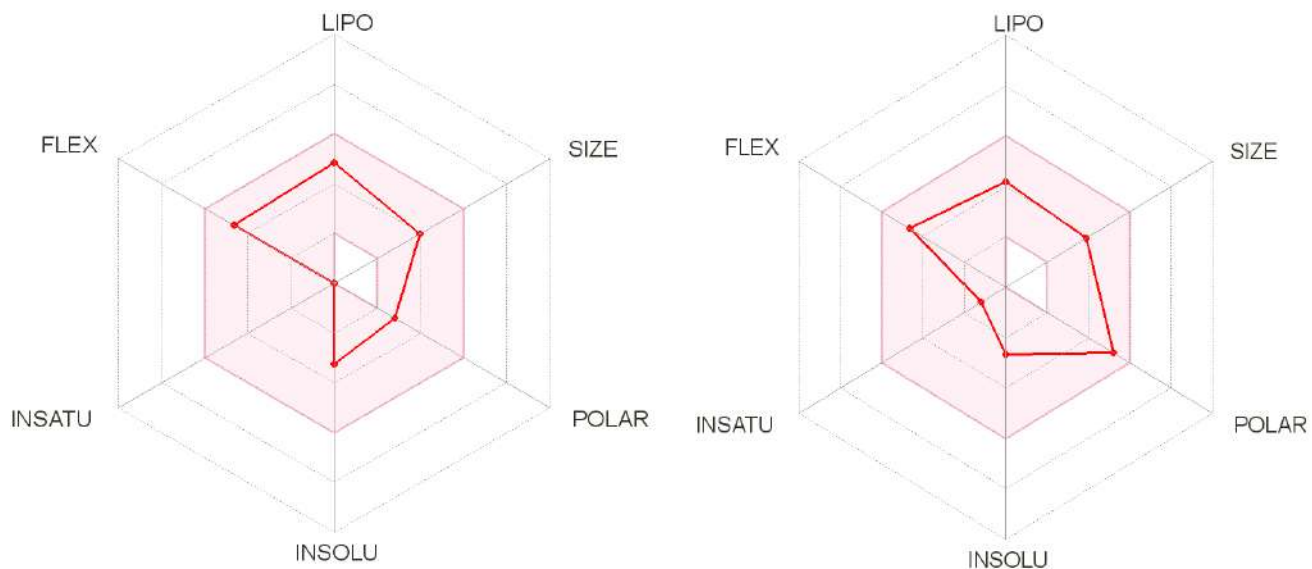
Таблиця 7.1 - Розрахунок показників ліпофільності за допомогою розрахункової платформи Molinspirationpropertyengine з використанням комплексу розрахункових підходів хемоінформатики *insilico*

| Пропранолол | Римантадин | R-морфолін (у адемолу) |
|---|---|--|
|  |  |  |
| <u>miLogP</u> 2,967 | <u>miLogP</u> 2,456 | <u>miLogP</u> 2,736 |
| <u>TPSA</u> 41,489 | <u>TPSA</u> 26,023 | <u>TPSA</u> 41,934 |
| GPCR ligand 0,12 | GPCR ligand 0,44 | GPCR ligand 0,15 |
| Ion channel modulator 0,06 | Ion channel modulator -0,24 | Ion channel modulator -0,02 |
| Kinase inhibitor -0,17 | Kinase inhibitor -0,97 | Kinase inhibitor -0,13 |
| Nuclear receptor ligand -0,19 | Nuclear receptor ligand- 0,79 | Nuclear receptor ligand -0,10 |
| Protease inhibitor -0,04 | Protease inhibitor -0,31 | Protease inhibitor 0,16 |
| Enzyme inhibitor 0,04 | Enzyme inhibitor -0,24 | Enzyme inhibitor 0,08 |
| | | CYP Inhibitory Promiscuity Low CYP Inhibitory Promiscuity0,9001 ¹⁻³ |
| | | Biodegradation Not ready biodegradable 0.9931 ¹⁻³ |

Таблиця 7.2 - Порівняльна характеристика дескрипторів та деяких властивостей молекули адемола та β -адреноблокаторів із феноксипропаноламінною будовою

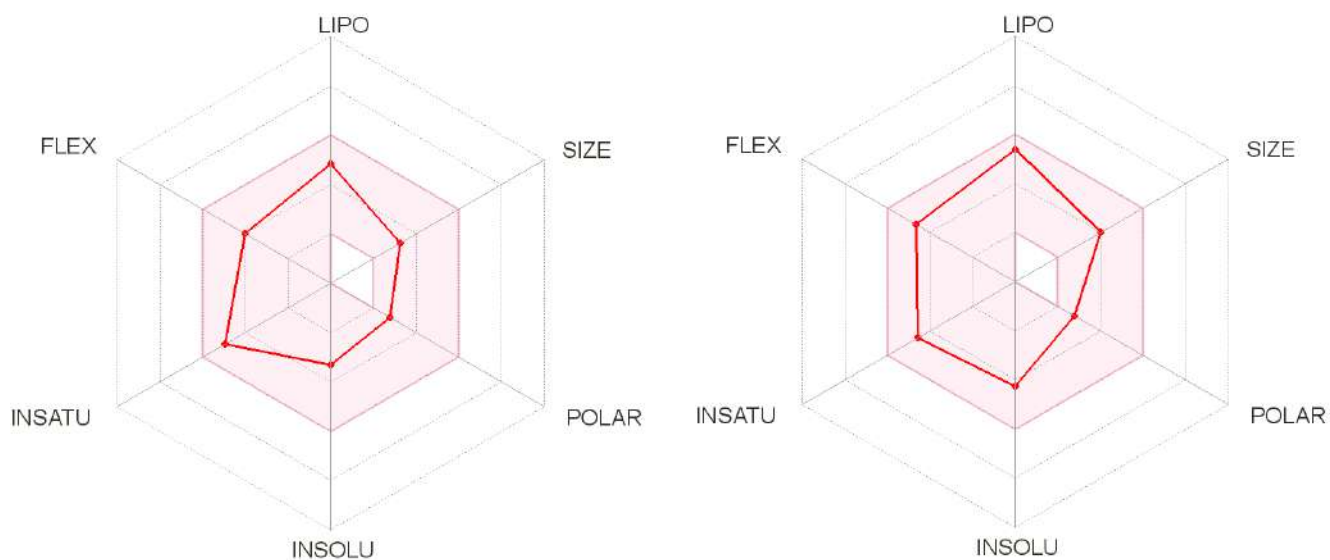
| Молекула Молекулярний дескриптор або константа | Адемола (1) | Тімолол (2) | Пропранолол (3) | SR 59230A (4) |
|---|-------------------|-------------------|------------------------------|-----------------------------|
| LogK _i (nM) відносно β -адренергічних рецепторів ока, <i>in vivo</i> [420] | НД* | 1,2 | 1,4 | НД |
| Log P _{o/w} (iLOGP) | 1.73 | 2.77 | 3.25 | 3.85 |
| Log P _{o/w} (XLOGP3) | 2.94 | 1.83 | 2.98 | 3.92 |
| Log P _{o/w} (WLOGP) | 1.92 | 0.12 | 2.58 | 3.33 |
| Log P _{o/w} (MLOGP) | 2.12 | -0.36 | 2.35 | 3.08 |
| Log P _{o/w} (SILICOS-IT) | 3.11 | 1.77 | 3.04 | 4.44 |
| Consensus Log P _{o/w} * <i>in silico</i> | 2.36 | 1.23 | 2.84 | 3.72 |
| Log PC n-octanol/pH 7,4 буфер, <i>in vitro</i> | НД | 1.91 | 3.21 | НД |
| TPSA, Å | 41.93 | 107.98 | 41.49 | 41.49 |
| Проникність крізь ГЕБ (метод BOILED-Egg)** | +++ | ні | +++ | +++ |
| Біодоступність, <i>insilico</i> | +++ | ++ | ++++ | +++ |
| Біодоступність (%), <i>invivo</i> | НД | 60-90 | ≈100 | НД |
| P-глікопротеїн субстрат <i>insilico</i> | ні | так | ні | ні |
| Розчинність основи у водних розчинах Log S (SILICOS-IT), <i>insilico</i> | -2.94 розчинна | -2.38 розчинна | -3.51 помірно розчинна | -6.64 погано розчинна |
| Молярна маса, г/моль | 323.47 | 316.42 | 259.34 | 325.44 |

Примітка 1. *НД – немає даних; **розраховано *insilico* на платформі SIB Swiss Institute of Bioinformatics (www.sib.swiss); *** Розраховано *insilico* за методом – ABOILED-Egg.



адемо́л (1)

тімо́лол (2)



пропраноло́л (3)

SR 59230A(4)

Рис. 7.2. Пелюсткові діаграми кореляції фізико-хімічних властивостей із біодоступністю сполук (гранична область біодоступності позначена червоним, тобто для препарату який має добру біодоступність крива не повинна виходити поза межі червоного шестикутника).

Для предикації проникнення адемола через ГЕБ ми використали розраховані нами *insilico* дескриптори – усереднену ліпофільність (ConsensusLog $P_{o/w}$), яка виявилася близькою до описаного раніше коефіцієнту ліпофільності у суміші октанолу та фосфатного буферу [402], та загальну площу полярних поверхонь молекул TPSA.

Після чого було побудовано діаграму кореляції дескрипторів ліпофільності та полярності адемола (рис. 7.3) та референтних досліджуваних молекул за методом «*the Brain Or Intestinal Estimated permeation method (BOILED-Egg)*» [402].

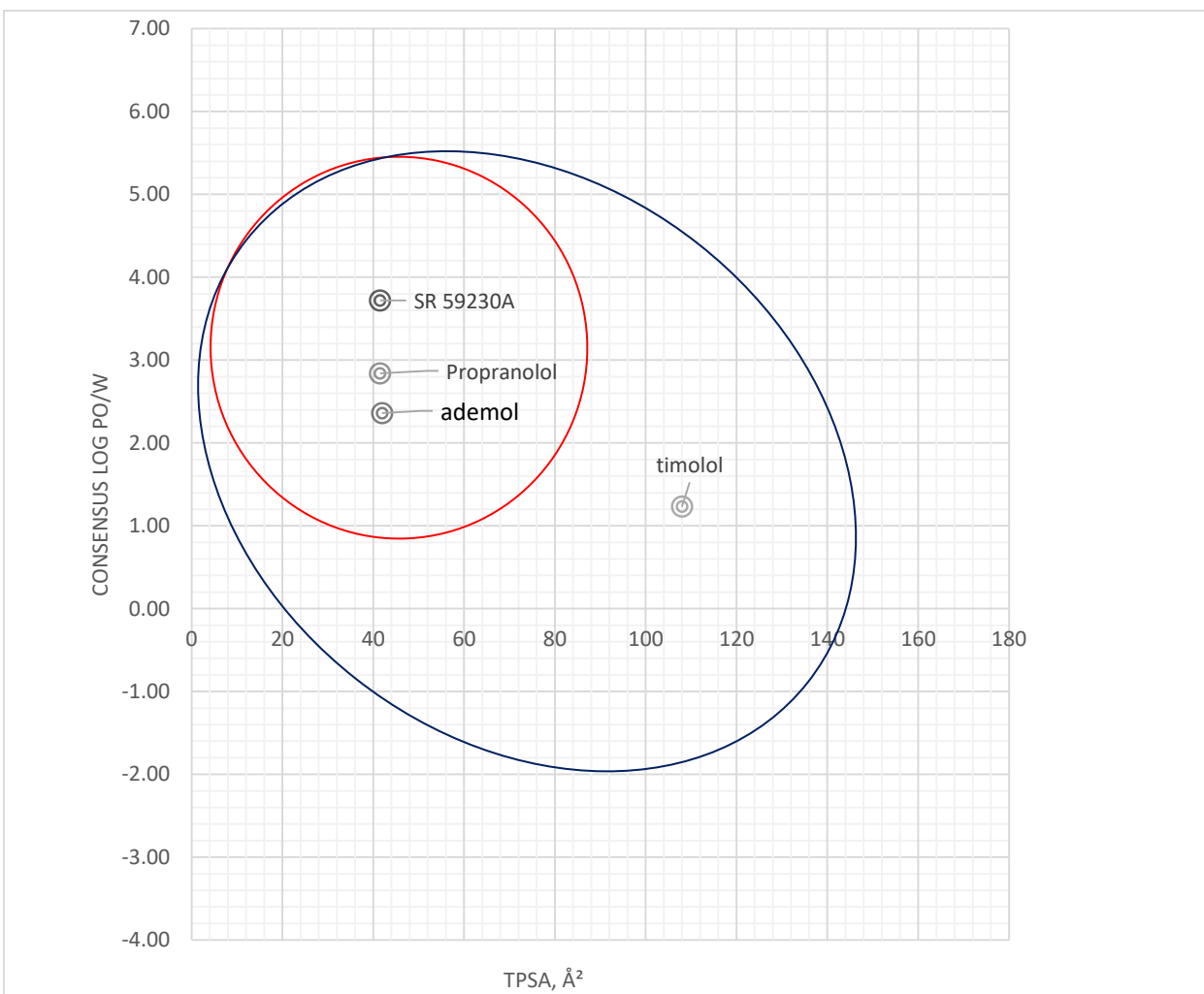


Рис. 7.3. Діаграма розрахованої *insilico* кореляції дескрипторів ліпофільності та полярності адемола та референтних досліджуваних молекул за методом «*the Brain Or Intestinal Estimated permeation method (BOILED-Egg)*»: точкисполук, які потрапили у внутрішнє коло володіють доброю проникністю крізь ГЕБ, а сполуки поза ним не проходять крізь ГЕБ.

Кореляція афінитету ($\text{Log}K_i$, nM) з полярністю для відомих β -адреноблокаторів та адемолу описується як параболічна поліноміальна функція другого порядку, однак вона виявилася менш достовірною для предикації, тому що коефіцієнт апроксимації складає лише $R^2=0,7803$ (рис. 7.4).

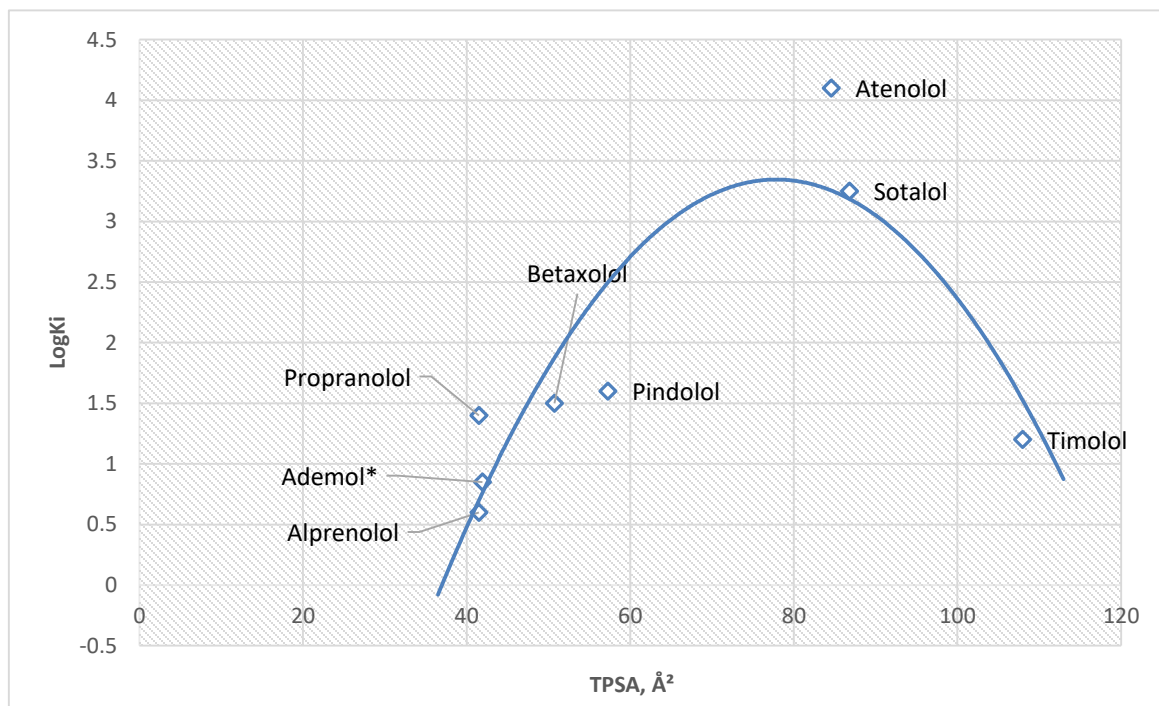


Рис. 7.4. Кореляція афінитету ($\text{Log}K_i$, nM) з полярністю молекул (TPSA, Å^2) для відомих β -адреноблокаторів та адемолу (коефіцієнт апроксимації $R^2=0,7803$).

Як виявилось адемолом разом з пропранололом та SR59230A потрапляє в область де проявляється як висока біодоступність, так і висока проникність крізь ГЕБ, тімолол – лише до області всмоктування у ШКТ. Цей факт пояснюється високою полярністю молекули тімололу, внаслідок присутності в його молекулі тіадиазинового ядра, замість арильного як у «типових» феноксипропаноламінів. Підвищена полярність тімололу очевидно сприяє його зв'язуванню із Р-глікопротеїном, тоді як в рази менш полярні молекули адемолу, пропранололу та SR59230A мають низьку афінність відносно нього.

Результати молекулярного докінгу адемола та референс-сполук до β_1 -

адренорецепторів (PDBID 2vt4,) представлено в таблиці 7.2 та на рис. 7.5-7.8.

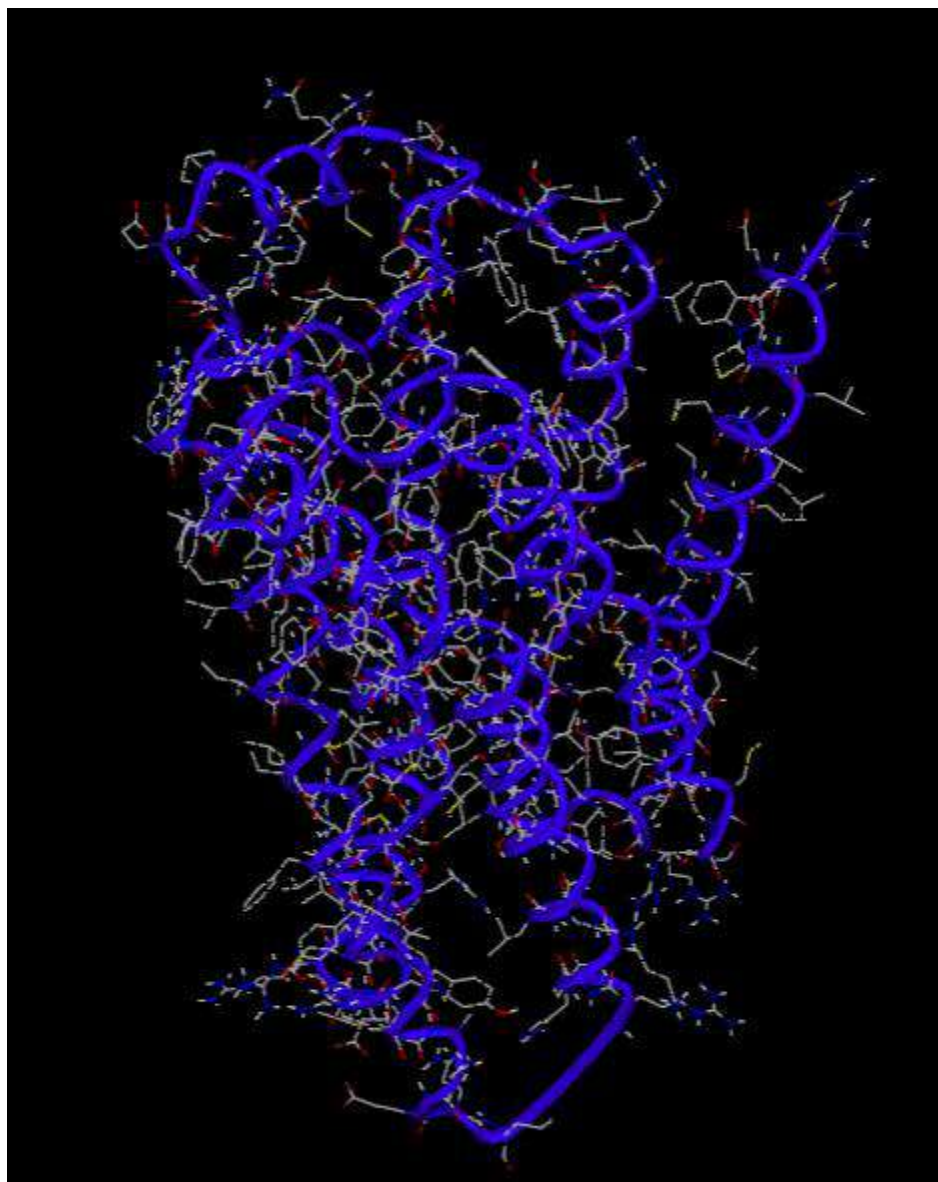


Рис. 7.5. 3D-візуалізація β_1 -адренорецептора (PDBID 2vt4).

Так, зв'язування адемола та його розташування у гідрофобній кишені активного сайту рецептора забезпечується за рахунок утворення декількох ключових взаємодій з енергією докінгу $E_{Doc} = -7,5$ ккал/моль (рис. 7.5-7.6). Зокрема в найактивнішій позиції відмічається можливість утворення водневих зав'язків між гідроксильною групою пропанамінового фрагмента адемола та ОН-групами треоніна Trh80 і аспарагінової кислоти Asp83.

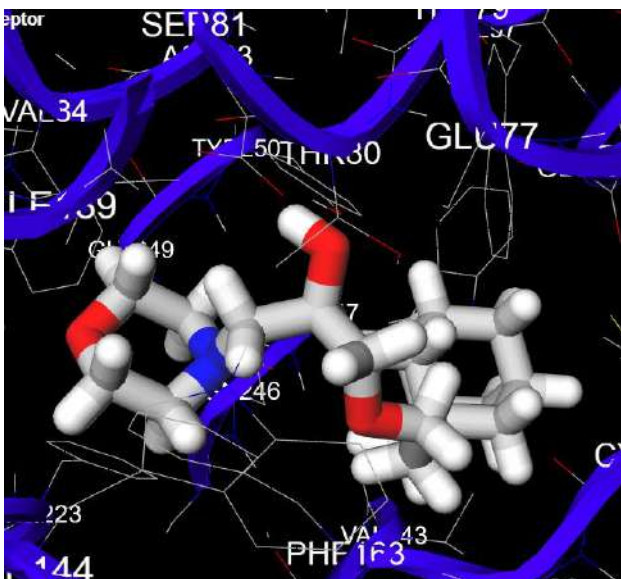
Третинна аміногрупа морфолінового залишку здатна утворювати водневий зв'язок при взаємодії із CONH₂ групою аспарагіна. Гідрофобні взаємодії зафіксовано між адамантановим ядром адемола та аліфатичними залишками валінів (Val243, Val64) та лейцину Leu63.

Таблиця 7.3 - Молекулярний докінг адемола та референс-сполук до β₁-адренорецептора (PDBID 2vt4)

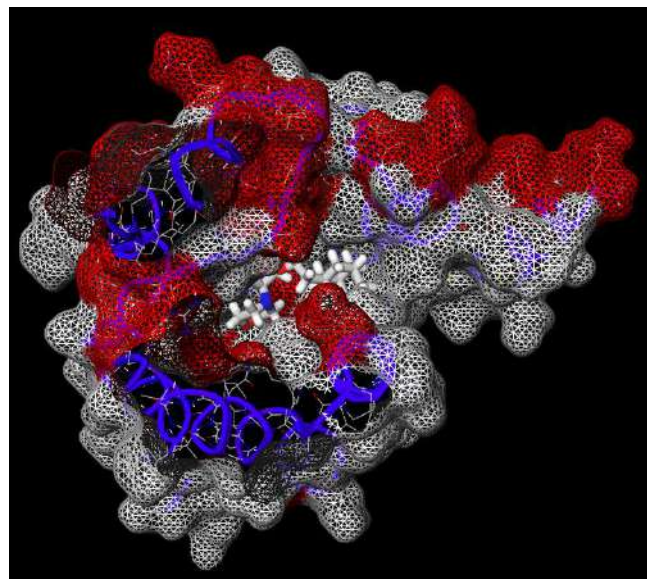
| Сполука | Показники докінга | | Амінокислоти, активного центру бета-1-рецептора, з якими відбувається взаємодія в позиції 1 |
|--------------|-------------------|-------------------------------------|---|
| | Позиція | Енергія E _{Doc} , kcal/mol | |
| Адемола | 1 | -7,5 | Trh80, Asp83, Asn246, Phe163, Phe223, Trp247, Val243, Val64, Leu63 |
| | 2 | -7,4 | |
| | 3 | -7,4 | |
| | 4 | -7,4 | |
| Пропранолола | 1 | -7,9 | Trh80, Asp83, Asn246, Val84, Val87, Phe178, Phe224, Tyr250 |
| | 2 | -7,7 | |
| | 3 | -7,6 | |
| | 4 | -7,6 | |
| Тімолола | 1 | -7,0 | Trh80, Asp83, Tyr250, Asn246, Trp247, Val64, Val243, |
| | 2 | -7,0 | |
| | 3 | -6,9 | |
| | 4 | -6.5 | |

На відміну від адемола пропранолол містить ароматичне нафталенове ядро, а отже для нього додатково фіксуються π-π взаємодії із залишками фенілаланінів (Phe178, Phe224), що очевидно, призводить до підвищення зв'язування з рецептором (E_{Doc} = -7,9 ккал/моль), хоча із вельми близькими значеннями до адемола (рис. 7.6-7.7). Важлива для прояву бета-блокуючої активності вільна ОН-група пропранололу також утворює водневі зв'язки, як і молекула адемола, із ОН-групами залишків треоніну Trh80, аспарагінової кислоти Asp83 в активному центрі рецептора. Вторинна аміногрупа N-ізопропіламінового залишку здатна

утворювати водневий зв'язок при взаємодії із CONH₂ групою аспарагіна Asn246 та додатково із фенольним гідроксилем тирозину (Tyr250). Крім того, спостерігаються гідрофобні контакти молекули пропранололу із залишками валіну (Val84, Val87).



А



В

Рис. 7.6. 3D-візуалізація зв'язування молекули адемолу з показником стикування ($E_{Doc} = -7,5$ ккал/моль) з активним сайтом β_1 -адренорецептора (PDBID 2vt4) за результатами молекулярного докінга: А. Розташування молекули адемолу відносно амінокислотних залишків активного центру рецептора; В. Місце розташування молекули адемолу у активному сайті рецептора.

Тімолол за результатами докінгу мав найменшу з трьох препаратів спорідненість до бета-1-адренорецептора за виражем енергії докінгу $E_{Doc} = -7,0$ ккал/моль (рис 8). Вільна ОН-група тімололу в найактивнішій позиції утворює водневі зв'язки із ОН-групами залишків треоніна Trh80, аспарагінової кислоти Asp83 в активному центрі рецептора та фенольним гідроксилем тирозину (Tyr250). Вторинна NH-аміногрупа N-трет-бутильного залишку здатна утворювати водневий зв'язок при взаємодії із CONH₂ групою аспарагіна Asn246 та, очевидно,

створює певні стеричні перешкоди внаслідок об'ємності, що перешкоджає більш ефективному входженню молекули тімололу в активний сайт рецептора.

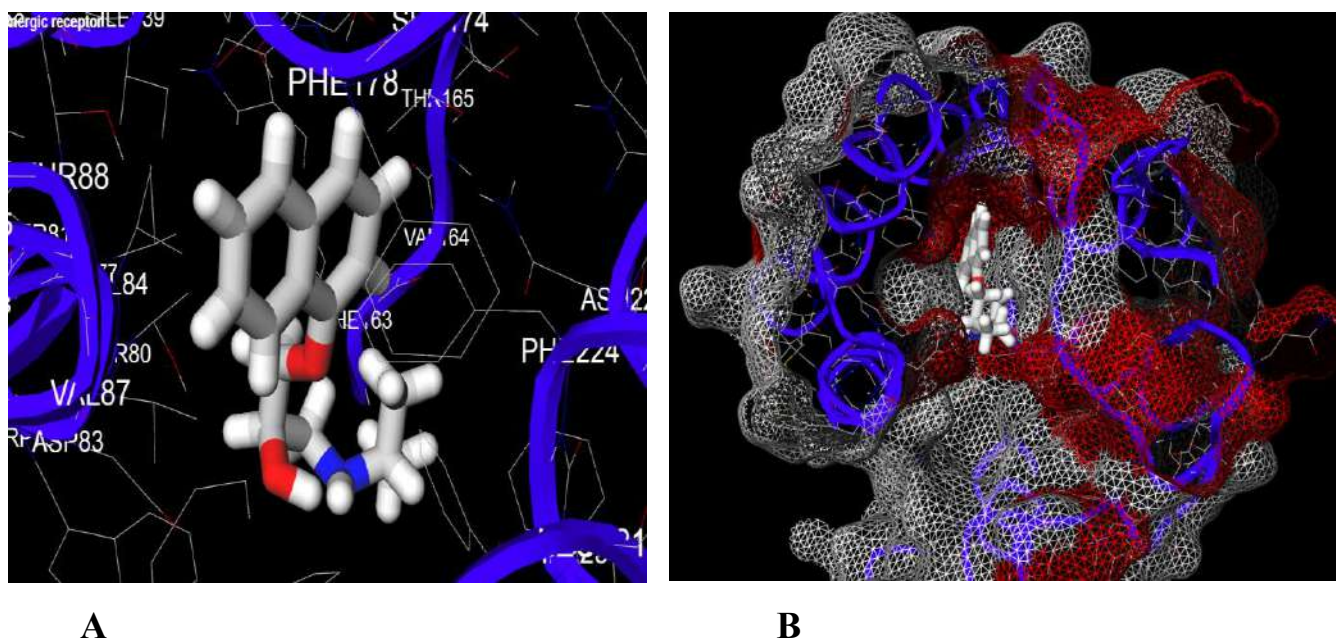


Рис. 7.7. 3D-візуалізація зв'язування молекули пропранололу з найкращим показником докінгу ($E_{Doc} = -7,9$ ккал/моль) з активним сайтом β_1 -адренорецептора (PDBID 2vt4) за результатами молекулярного докінга: А. Розташування молекули пропранололу відносно амінокислотних залишків активного центру рецептора; В. Місце розташування молекули пропранололу у активному сайті рецептора.

Аналізуючи особливості хімічної будови адемолу (рис. 7.1), слід відмітити, що у валкокси-групі він містить 1-адамантилетильний замісник, а як амінний фрагмент – морфолін. Очевидно, що зазначені структурні особливості обумовлюють його фармакодинамічні ефекти в умовах інфаркту міокарда, перехідної ішемії зорового аналізатора, інсульту (за ішемічним та геморагічним типом).

На рис. 7.9 зображено ймовірні шляхи метаболізму адемолу за принципом від менш полярних до більш полярних розчинних метаболітів. Хоча простий естерний зв'язок досить міцний до метаболізму, шлях (I) видається більш

ймовірним. Також метаболізм адемолау може відбуватись за рахунок бічного ланцюга. Одним із ймовірних метаболітів в такому випадку є адамантіл-1-іл-оцтова кислота та 2-адамантил-1-етанол, які екскретуються із сечею.

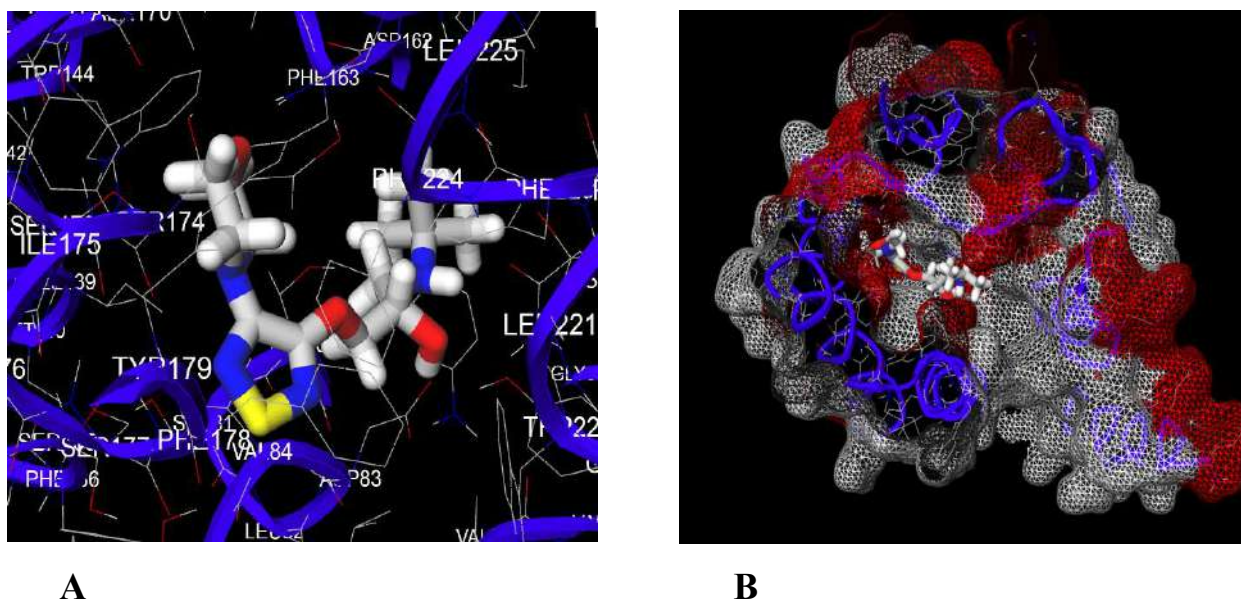


Рис. 7.8. 3D-візуалізація зв'язування молекули тімолола з найкращим показником стикування ($E_{Doc} = -7,0$ ккал/моль) з активним сайтом β_1 -адренорецептора (PDBID 2vt4) за результатами молекулярного докінга: А. Розташування молекули тімололу відносно амінокислотних залишків активного центру рецептора; В. Місце розташування молекули тімололу у активному сайті рецептора.

Можливе високе зв'язування адемолау із альбумінами плазми, що забезпечує альтернативний шлях метаболізму, який відбувається повільно в печінці за рахунок наявності інертного адамантанового радикалу. Слід відмітити, що адемолау є високо ліпофільним препаратом та подібним за будовою бічного ланцюга до β -блокаторів, зокрема некардіоселективного β -блокатору анаприліну. Для таких речовин характерна висока ліпофільність. Що підтверджується розрахованими показниками ліпофільності за допомогою розрахункової платформи

(Molinspiration property enginev 2013.09).

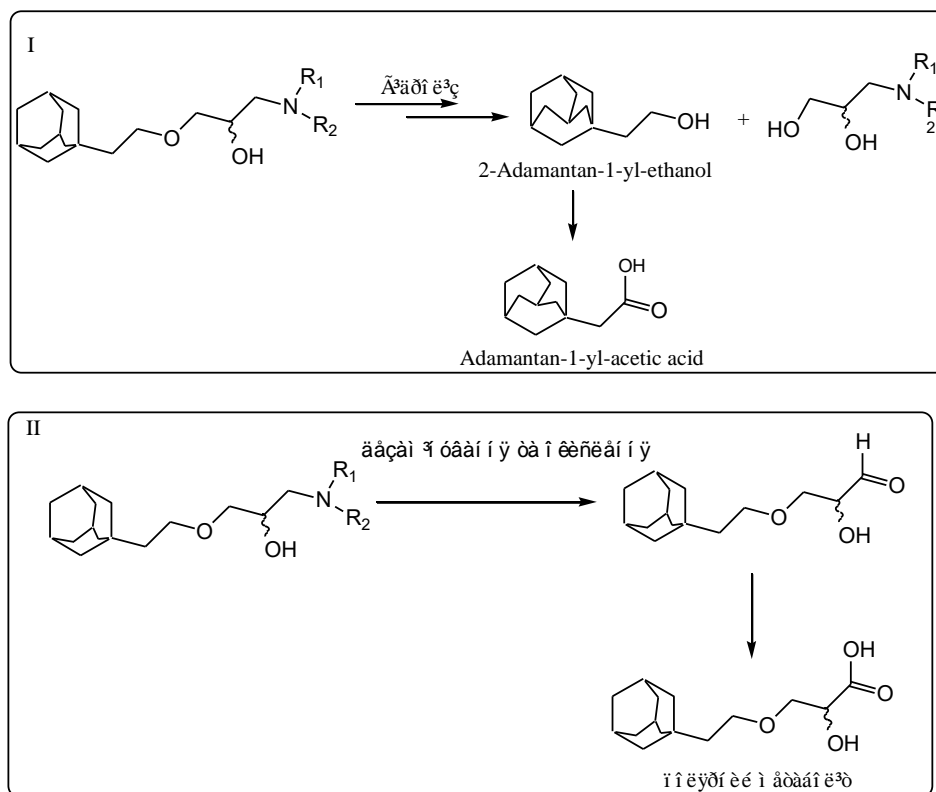


Рис. 7.9. Ймовірні шляхи метаболізму адемолау.

Аналізуючи наведені факти, а також зважаючи на отримані результати кореляції дескрипторів ліпофільності та полярності адемола та референтних досліджуваних молекул методами хемоінформатики (табл. 7.1, 7.2, рис. 7.2-7.4) та можливість його проникнення через гематоенцефалічний бар'єр, ми припустили, що цей препарат є перспективним для вивчення його захисної дії на мозок при його ішемічному ураженні, асоційованому із підвищеним ВЧТ.

Далі використовуючи метод молекулярного докінгу (табл. 7.2, 7.3, рис. 7.5-7.9) було оцінено спорідненість атенололу до бета-1-адренергічного рецептора у порівнянні із пропранололом та тімололом. Отримані результати указують на здатність адемола зв'язуватися із обраною мішенню, не поступаючись тімололу та наближаючись до пропранололу.

Аналізуючи дані таблиці 7.1, а також рис. 7.1 та 7.9 можливо намітити та

передбачити ймовірні шляхи хімічної модифікації молекули адемолу та які функціональні групи необхідні для введення в цю структуру для посилення афінності до різних сайтів NMDA рецепторів із подальшою метою синтезу більш ефективного нейропротектора. Зіставляючи структуру адемолу і амантадину (1-адамантиламін), слід відмітити, що обидва препарати є слабкими антагоністами глутаматних NMDA-рецепторів та гальмують генерацію імпульсів в моторних нейронах ЦНС. Для них можна припустити, що введення NH_2 -аміногрупи буде сприяти підсиленню описаного виду фармакологічної та рецепторної активності. Також можна рекомендувати включити в молекулу залишки гліцину або глутамінової кислоти. На підтримку цієї тези стосовно наявної вільної аміно-групи безпосередньо пов'язаної із адамантановим каркасом вказують і дані про препарат із групи аміно-адамтанів – мідантан, який має ще більшу, ніж іони Mg^{2+} тропність до каналу рецептора, а зв'язуючись із ним блокує процеси, пов'язані з входженням іонів кальцію в канал. Також можна рекомендувати до введення груп, які гіпотетично будуть хелатувати іони Mg^{2+} і не пускати їх в канал NMDA-рецепторів. Наприклад, радикал етилендіамін-тетраоцтової кислоти (залишок Трілону Б).

Отже, використовуючи комплекс методів хемоінформатики, зокрема, метод «*BOILED-Egg*» встановлено, що адемомол препарат із високою біодоступністю, яка забезпечує можливість внутрішньовенного введення. Адемомол гарно проникає крізь ГЕБ, що пов'язано із задовільною лікоподібністю. Проникність адемолу через ГЕБ є запорукою його нейропротекторної активності, а структурна подібність до β -адреноблокаторів та його афінність обумовлює лікворогіпотензивну дію похідного адамантану, що спричиняє зниження підвищеного ВЧТ.

Методом молекулярного докінгу *insilico* на клонованому β_1 -адренорецепторі *Meleagris gallopavo*, встановлена здатність адемолу до блокування β -адренорецепторів. За залежністю лікворогіпотензивної активності та спорідненості до β_1 -адренорецепторів (E_{doc} , kkal/mol) адемомол займає проміжне

місце між пропранололом та тімололом, причому, обидва останніх знижують підвищений ВЧТ.

Побудовано модель кореляції афінітету від ліпофільності для ряду відомих β -адреноблокаторів та передбачено афінність адемолу, яка наближається до високоафінних неселективних β -адреноблокаторів, згідно з цими даними за збільшенням афінності до β -адренорецепторів адемола можна розташувати наступним чином: тімолол < адемола < левобуналола < альпреналола.

Метаболізм адемола може відбуватись, як за рахунок бічного ланцюга із утворенням його метаболіту адамантіл-1-іл-оцтової кислоти і 2-адамантантіл-1-етанолу, що екскретуються із сечею, так і внаслідок зв'язування адемола із альбумінами плазми, що забезпечує альтернативний шлях метаболізму, який відбувається повільно в печінці завдяки наявності інертного адамантанового радикалу.

Введення NH_2 -аміногрупи, залишків гліцину або глутамінової кислоти до каркасу молекули адемола, буде сприяти посиленню його афінності, що підсилить нейропротекторну активність через більш повну та фізіологічну блокаду NMDA-рецепторів. Адемола представляє собою перспективний нейропротекторний засіб, який можливо використовувати при ураженні головного мозку, яке асоційовано із підвищеним ВЧТ (геморагічний інсульт, черепно-мозкова травма).

Перелік публікацій, в яких висвітлено основні матеріали даного розділу: [402, 416].

РОЗДІЛ 8

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЩОДО СТВОРЕННЯ ІНТРАНАЗАЛЬНОЇ ФОРМИ З АДЕМОЛОМ

Розробка нової рідкої назальної форми з активним фармацевтичним інгредієнтом (АФІ) для системного застосування повинна враховувати біологічні, фізико-хімічні та технологічні фактори, які ймовірно впливатимуть на транспортування АФІ через ніс-мозок. Серед таких факторів особливій увазі приділяють:

- утриманню лікарської форми з АФІ, в носовій порожнині впродовж 20-30 хв. (робота мукоциліарного кліренсу);
- рН лікарської форми в діапазоні 4,5-6,5;
- ефективність лікарської форми при температурі (29-37 °С);
- використанню мукоадгезивних компонентів, зволожувачів;
- використання консервантів або методів стерилізації [115, 214].

Розробка назальних лікарських форм спонукає до раціонального вибору інгредієнтів рецептури. Для цього застосовуються різні підходи: емпіричний – базується на обґрунтуванні компонентів рецептури завдяки наявному досвіду дослідника; використання методу математичного планування експерименту – одно або багатофакторний експеримент дозволяє обрати компоненти рецептури шляхом визначення впливу фактору(факторів) на обраний параметр оптимізації; використання програмного забезпечення у вигляді експертної системи, яка в своєму функціоналі об'єднує можливості емпіричного підходу, методів математичного планування експерименту та вбудованих моделей машинного навчання [102, 274, 211].

Початковий вибір інгредієнтів рецептури здійснено за допомогою програмного засобу - експертної системи “ExpSysNasalia” (nasalia.zsmu.zp.ua) [274], якою запропоновано додати до складу рецептури пластифікатор,

мукоадгезивний засіб та консервант. В результаті отримано модельний рецептурний пропис (табл. 8.1).

Таблиця 8.1 - Модельний рецептурний пропис інтраназальної форми з адемолом

| Найменування | Кількість, г |
|----------------------------|--------------|
| Адемола | 1,0 |
| Гліцерин | 5,0 |
| Гідроксиетилцелюлоза (ГЕЦ) | 0,3 |
| Бензалконію хлорид | 0,02 |
| Вода очищена | До 100 |

8.1 Вивчення сумісності АФІ з допоміжними речовинами у модельній назальній лікарській формі

З метою комплексного вивчення сумісності інгредієнтів, в назальній формі, проведено *in silico*, а також експериментальні термогравіметричні дослідження. Здійснення *insilico* досліджень виконано за допомогою експертної системи “ExpSysNasalia”. В інтерфейс системи попарно вносили інгредієнтирецептури назальної форми у вигляді специфікації спрощеного представлення молекул в рядку введення (SMILES) та перевіряли сумісність. Отримали наступні результати (табл. 8.2).

Отримано дані комплексних моделей машинного навчання (табл. 8.2), які згідно високих показників Score, в переважній більшості, свідчать про сумісність інгредієнтів та можливість їх поєднання в одній рецептурі назального лікарського засобу. В результаті отримано параметри термогравіметричного аналізу у вигляді графічного зображення – дериватограм (рис. 8.1-8.4).

Таблиця 8.2 - Результати *insilico* досліджень сумісності інгредієнтів назальної форми з адемолом

| Сполука 1 | Сполука 2 | Модель | Сумісність (Так/Ні) | Score |
|-----------|--------------------|---------------------------------------|---------------------|--------|
| Адемолом | Гліцерин | blender (random forest, extra tree) | Так | 0,9649 |
| | | blender (catboost, lightgbm, xgboost) | Так | 1,0 |
| Адемолом | ГЕЦ | blender (random forest, extra tree) | Так | 0,8896 |
| | | blender (catboost, lightgbm, xgboost) | Так | 0,9984 |
| Адемолом | Бензалконію хлорид | blender (random forest, extra tree) | Так | 0,8971 |
| | | blender (catboost, lightgbm, xgboost) | Так | 0,9964 |
| Гліцерин | ГЕЦ | blender (random forest, extra tree) | Ні | 0,561 |
| | | blender (catboost, lightgbm, xgboost) | Так | 0,8947 |
| Гліцерин | Бензалконію хлорид | blender (random forest, extra tree) | Так | 0,5553 |
| | | blender (catboost, lightgbm, xgboost) | Так | 0,6678 |
| ГЕЦ | Бензалконію хлорид | blender (random forest, extra tree) | Ні | 0,5004 |
| | | blender (catboost, lightgbm, xgboost) | Так | 0,5278 |

Примітка 1. Score 0 – min, 1 – max.

Примітка 2. blender (random forest, extra tree) – комплексна модель машинного навчання, яка включає моделі random forest, extra tree.

Примітка 3. blender (catboost, lightgbm, xgboost) – комплексна модель машинного навчання, яка містить моделі catboost, lightgbm, xgboost.

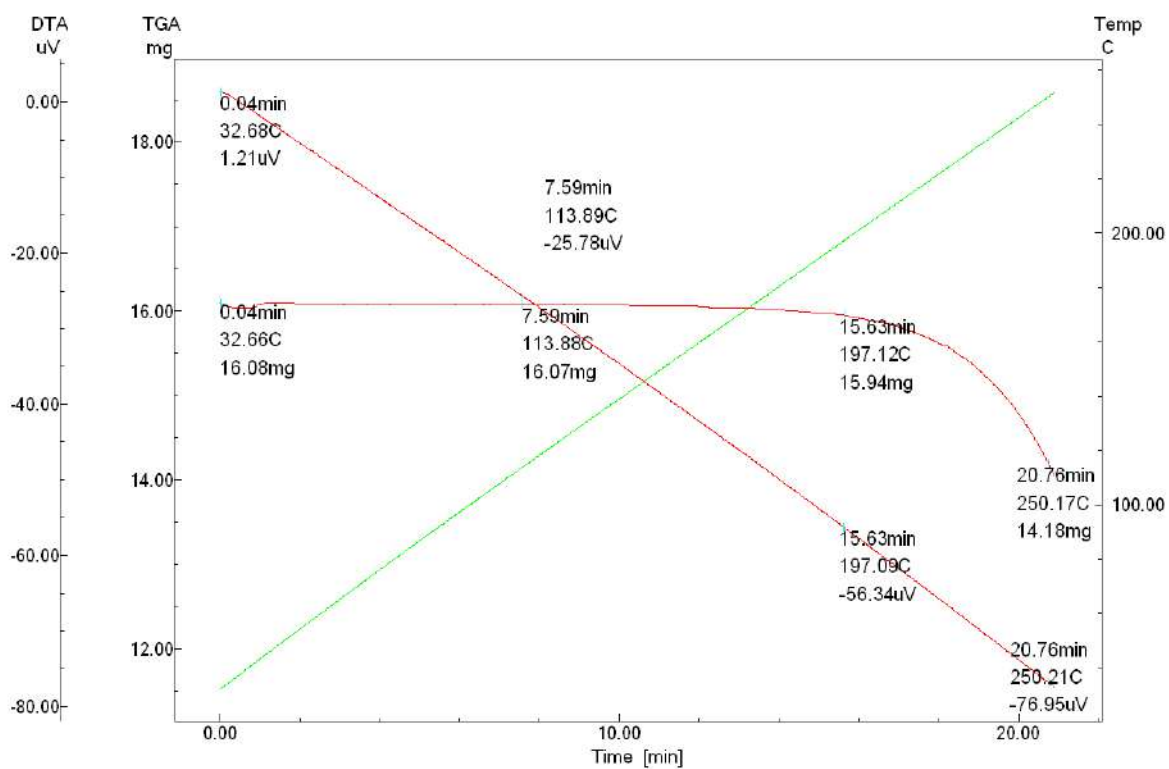


Рис. 8.1. Дериватограма діючої речовини адемола.

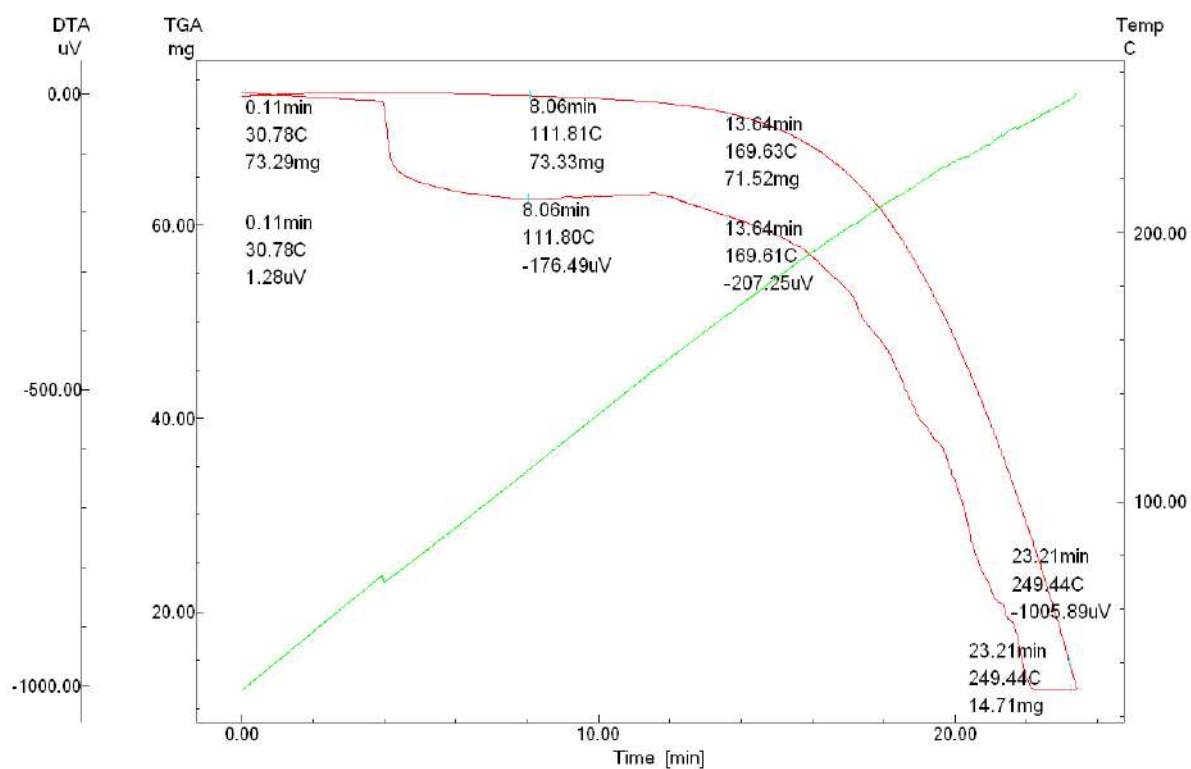


Рис. 8.2. Дериватограма пластифікатору – гліцерину.

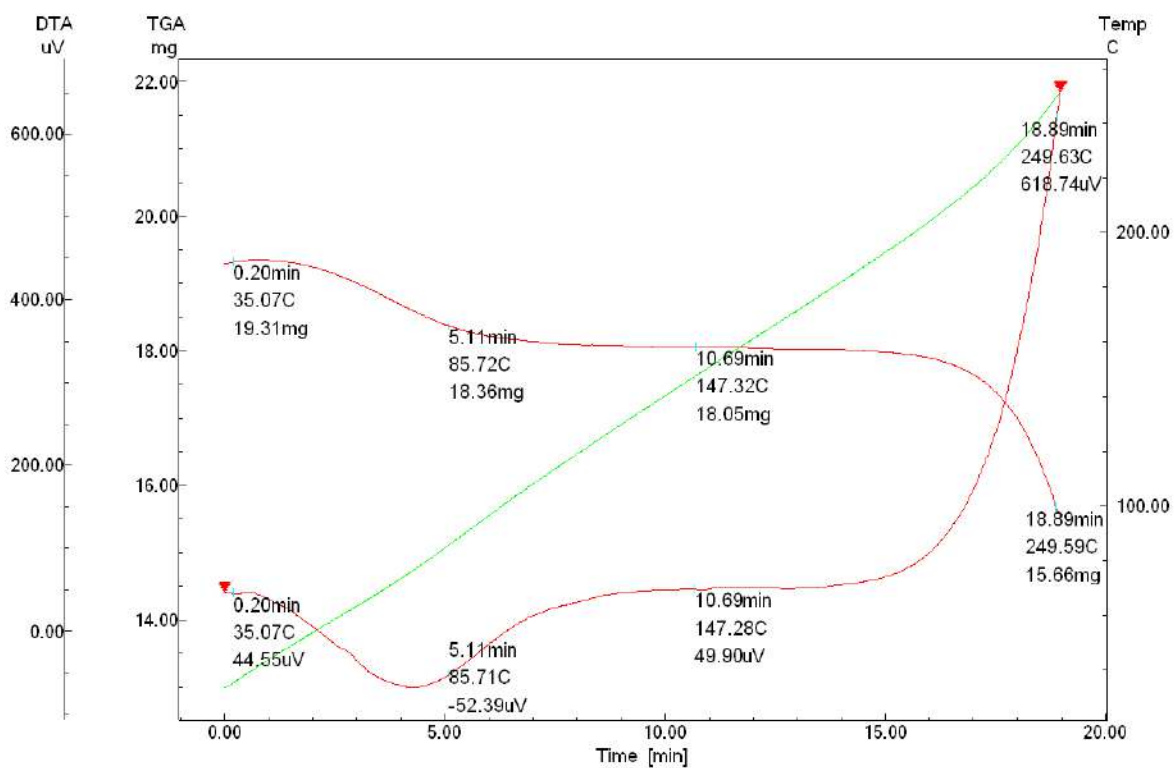


Рис. 8.3. Дериватограма мукоадгезивого компоненту ГЕЦ.

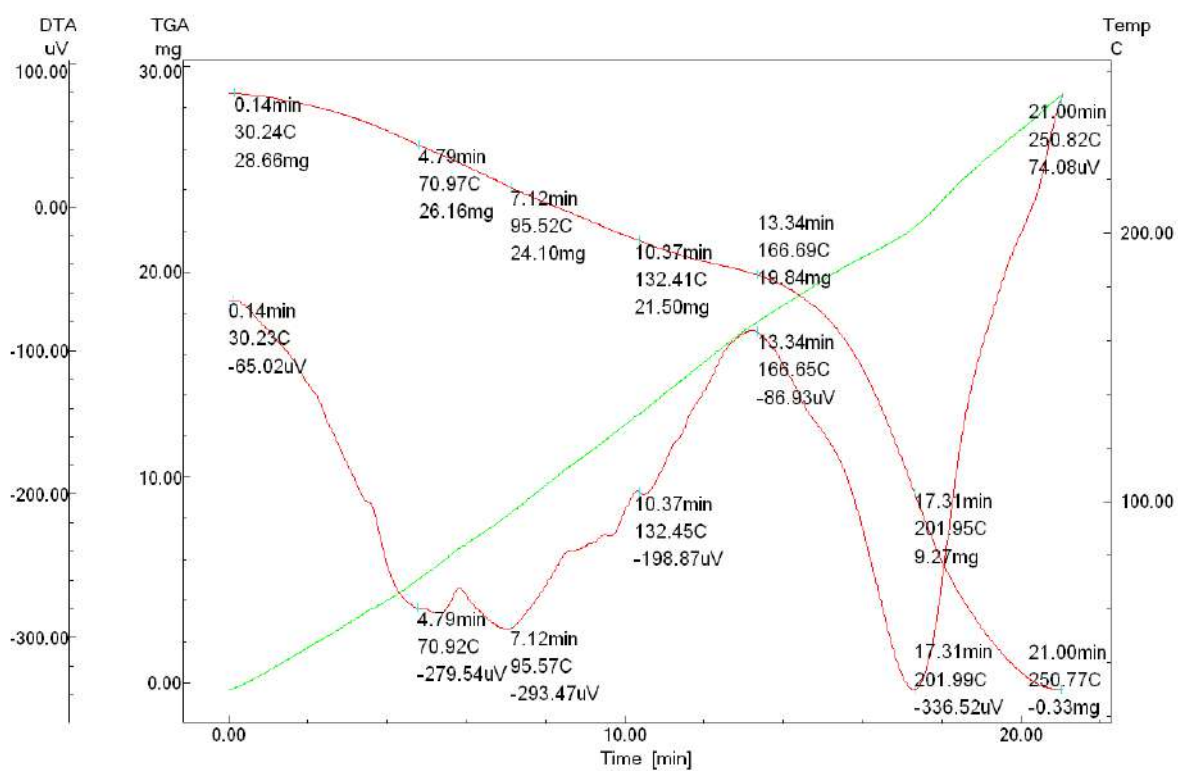


Рис. 8.4. Дериватограма консерванту бензалконію хлориду.

Порівняння дериватограм, а саме теплових ефектів та динаміки зміни маси зразків дозволить прогнозувати наявність можливої взаємодії компонентів назальної форми під час нагрівання (рис. 8.5, 8.6).

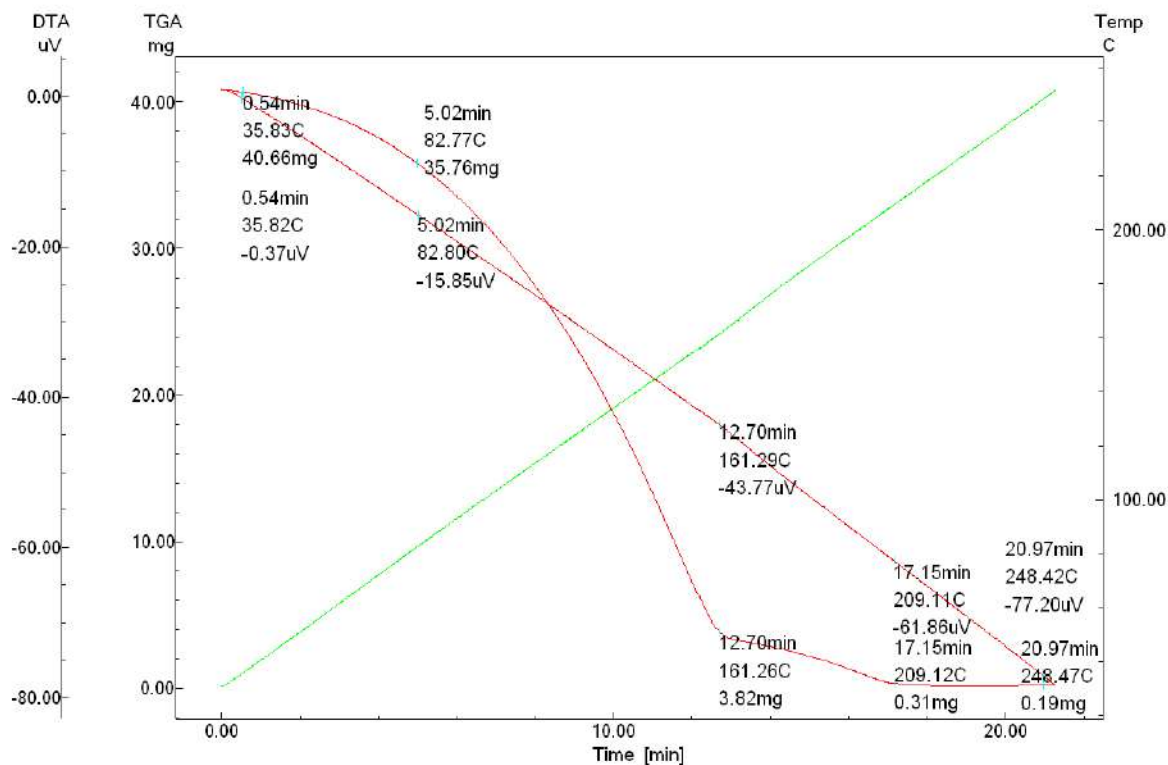


Рис.8.5. Дериватограма назальної форми без адемола.

Дериватограма АФІ - адемола (рис. 8.1) характеризує сполуку, як досить термостабільну речовину. Маса зразку від на початку експерименту становила 16,08 мг. На сьомій хвилині досліді при температурі 113,88 °С маса майже не змінилась, також не спостерігалось виражених ендотермічних та екзотермічних ефектів. На п'ятнадцятій хвилині досліді втрата маси зразку від початку експерименту склала 0,14 мг (0,87%). Наприкінці експерименту при температурі 250 °С втрата маси зразку від початку експерименту становила 1,9 мг (11,82%).

Дериватограма пластифікатора гліцерину (рис. 8.2) висвітлює незначні теплові ефекти та повільну втрату маси зразку. Втрата маси від початку експерименту до тринадцятої хвилини досліді при температурі 169,63 °С

становила 1,77 мг (2,42 %). Вже після 170 °С спостерігалась динамічна стрімка зміна маси зразку, що призвело до зменшення маси від початку експерименту на 58,58 мг (79,93%), що характеризує її, як відносно стабільну та невибагливу з технологічної точки зору речовину.

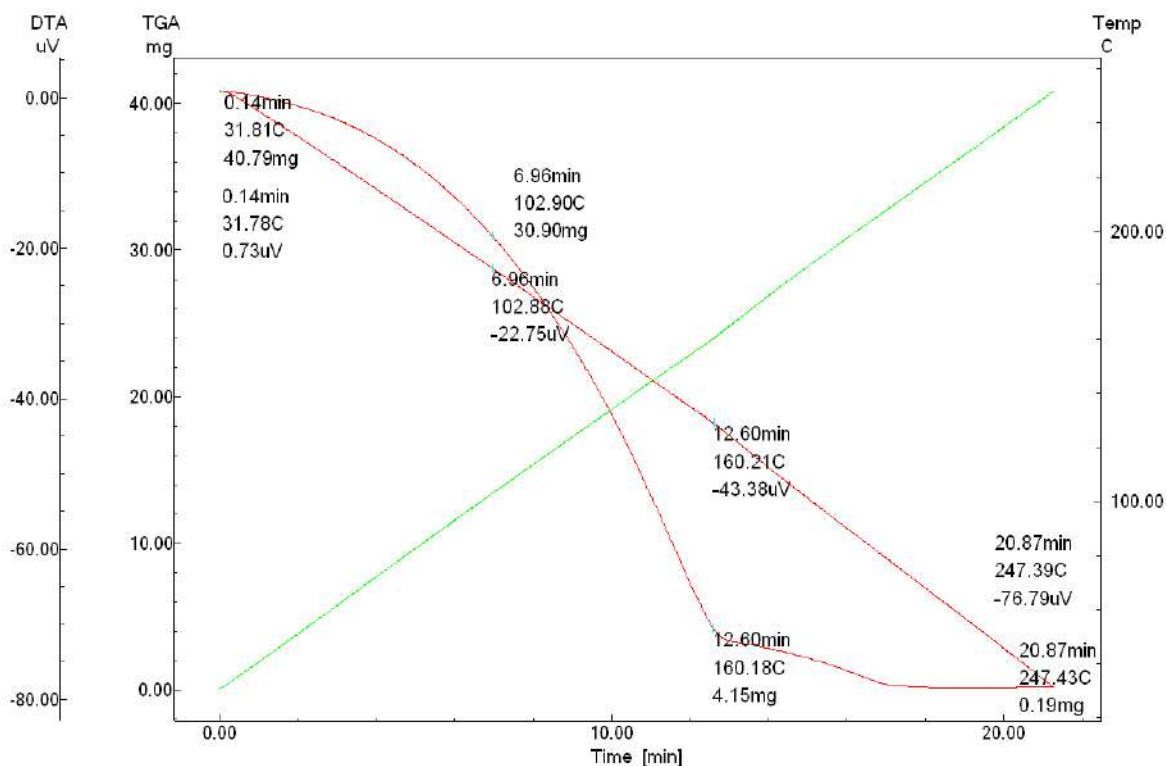


Рис. 8.6. Дериватограма назальної форми з адемолом.

Дериватограма мукоадгезивного компоненту - ГЕЦ (рис. 8.3) характеризує як чутливий до нагрівання компонент. На п'ятій хвилині експерименту, при температурі 85,72 °С, спостерігався ендотермічний ефект, втрата маси зразку, при цьому, склала від початку експерименту – 0,95 мг (4,92%). Тому, в технології виготовлення назальної форми доцільно враховувати температурний режим для попередження руйнування компоненту рецептури.

Дериватограма антимікробного компоненту бензалконію хлориду (рис. 8.4) характеризує речовину, як термолабільну, про що свідчить динаміка зміни теплових ефектів та маси зразку. На четвертій хвилині експерименту, при

температурі 70,97 °С, маса зразку змінилась від початку експерименту на 2,5 мг (8,72%), що також супроводжувалось вираженим ендотермічним ефектом (-279,54 uV), а на сьомій хвилині при температурі 95,52 °С втрата маси зразку від початку досліду склала 4,56 мг (15,91%). Отримані дані корелюють з інформацією літературних джерел щодо температури плавлення даної сполуки, а також свідчать про доцільність врахування температурного режиму в технологічному процесі виготовлення назальної форми.

Порівнюючи дериватограму рідкої назальної форми, в складі якої відсутній адемомол, а також дериватограму назальної форми з адемомолом, виявлено, що у дослідних зразків профілі теплових ефектів та динаміка зміни маси має подібний характер. Дослідні назальні форми мають профіль дериватограм, яких характеризує їх, як гідрофільні композиції з великою кількістю води. Характер наявних теплових ефектів на дериватограмі рідкої назальної форми з адемомолом співпадають з тепловими ефектами окремих допоміжних компонентів основи, що, в свою чергу, підтверджує відсутність взаємодії компонентів між собою.

8.2. Дослідження консистентних властивостей модельної рідкої назальної форми з адемомолом

Консистентні властивості лікарської форми відіграють важливу роль не тільки для споживчих властивостей при застосуванні пацієнтами, а й у технологічному процесі виготовлення та особливостях транспортування АФІ до організму людини. Для наукового обґрунтування консистенції застосовують реологічні методи дослідження, які дозволяють оцінити такі характеристики, як в'язкість, тиксотропія, мижа плинності та інші. Крім того, отримана характеристика консистенції лікарської форми дозволить прогнозувати температурний режим виготовлення, раціональну упаковку для зберігання та транспортування, а також стабільність лікарської форми [274].

Для реологічних досліджень готували зразки рідкої назальної форми (згідно

рецептури табл. 8.1.) без діючої речовини адемом та з діючою речовиною адемом. Виготовлені зразки залишали на 1 добу в прохолодному місці з метою встановлення стабільності системи. Проведеними реологічними дослідженнями отримано реограми плин у координатах залежності напруги зсуву від швидкості зсуву, які мають низхідні та висхідні криві з нелінійним характером течії та петлями гістерезису (рис. 8.7, 8.8).

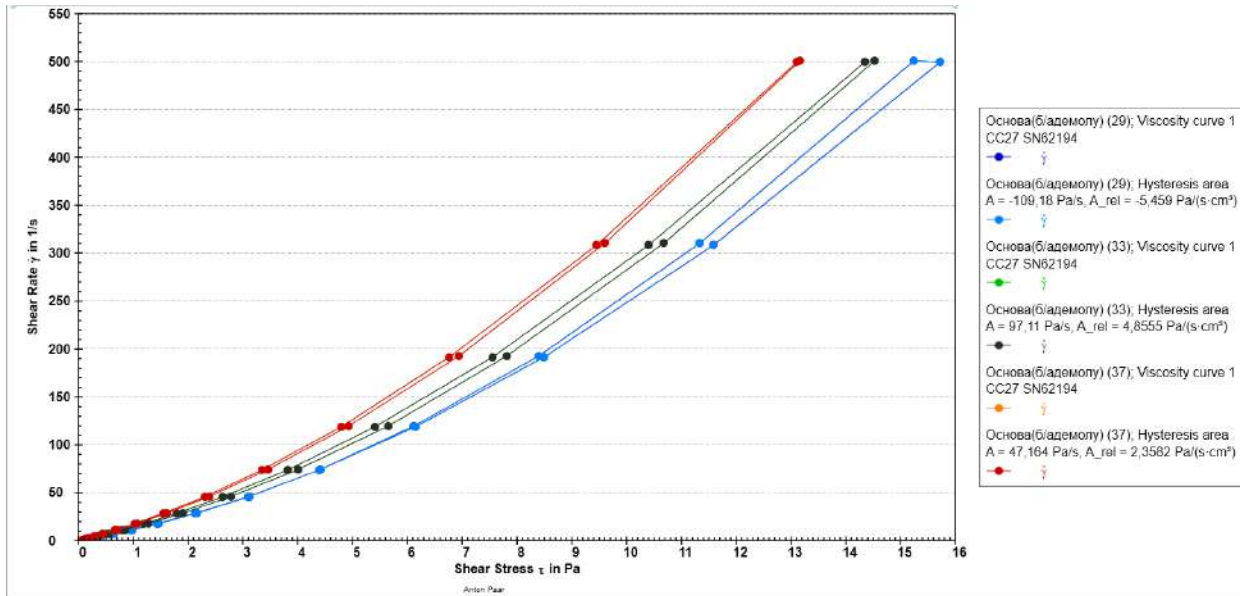


Рис. 8.7. Реограма плин назального гелю без адемому.

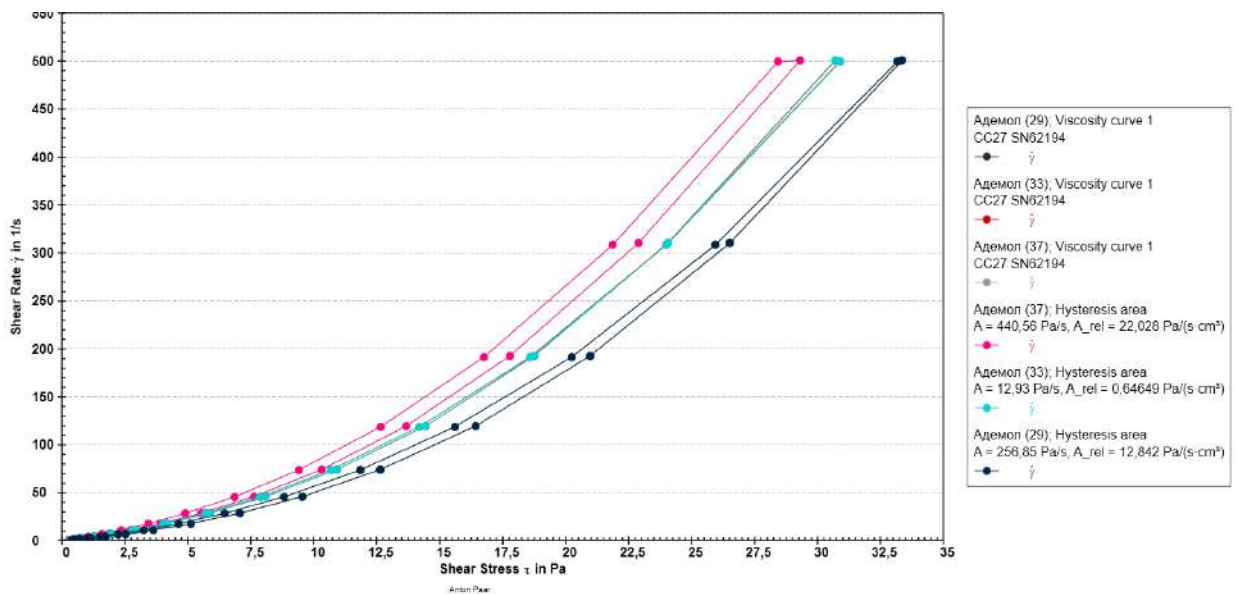


Рис. 8.8. Реограма плин назального гелю з адемому.

Дані отриманих реограм (рис. 8.7, 8.8) окреслюють очікувану зміну реологічних властивостей досліджуваних назальних лікарських форм одночасно з збільшенням температури досліджу. Додавання до складу рецептури мукоадгезивного компоненту ГЕЦ надало системам властивостей характерних для рідких гомогенних систем неньютонівського типу з низьким порогом течії. Наявні петлі гістерезису, у назальній форми без АФІ та назальній форми з АФІ, висвітлюють тиксотропні властивості систем – здатність лікарської форми відновлювати свою початкову структуру після прикладеної руйнівної сили, що в свою чергу дозволяє проводити тривалий процес обробки в технологічному процесі виготовлення. Консистентні властивості назальних форм з адемолом та без нього висвітлюють низький поріг течії, та відносно низьку в'язкість, що обумовлює використання в якості упаковки проепелентну, безпроепелентну, одноразову крапельницю або філакону з піпеткою /назальною насадкою.

8.3 Розробка технології екстемпорального виготовлення назальної форми з адемолом

Екстемпоральна технологія виготовлення назальної лікарської форми залежить від фізико-хімічних властивостей інгредієнтів рецептури, розчинності в гідрофільних та гідрофобних розчинниках, наявних згущувачів, енансерів адсорбції, консервантів тощо.

Відповідно до вимог «Вимоги до виготовлення нестерильних лікарських засобів в умовах аптек» (Методичні рекомендації, МОЗ України 2005, видання офіційне друге доповнене й перероблене, затверджені наказом МОЗ України № 398 від 01.07.2015 р) в аптеці забезпечуються умови GPP (належної аптечної практики), щодо приміщення, обладнання, персоналу та контролю якості виготовлюваних нестерильних лікарських засобів.

На 100 г рідкої назальної форми з адемолом необхідно взяти наступні інгредієнти в таких кількостях: адемолом 1,0, гліцерин 5,0, гідроксиетилцелюлоза (ГЕЦ) 0,3,

бензалконію хлорид 0,02, вода очищена до 100 г.

Технологія такої назальної форми з адемолом полягає у наступному. Провізор-технолог або фармацевт, у виробничому приміщенні для виготовлення нестерильних лікарських форм, в окрему термостійку ємкість відмірює 46,75 мл води очищеної та відважує 1,0 г адемолу, перемішує суміш до повного розчинення адемолу. Далі до цієї ємкості додає 5,0 г гліцерину, 0,3 г ГЕЦ, при постійному перемішуванні і нагріванні не вище 70 °С, суміш залишає на 30 хв. до повного набухання мукоадгезивного компоненту. В окрему ємкість відмірює 46,25 мл води очищеної та додає 0,02 г бензалконію хлориду, перемішує при нагріванні не вище 70 °С, до повного розчинення. До ємкості з розчином діючої речовини при обережному перемішуванні переносить розчин консерванту для попередження аерації суміші. Залишає отриманий розчин в прохолодному місці для стабілізації форми. Готова лікарська форма представляє собою прозору густувату рідину без запаху, з рН розчину 5,15-5,3.

Виготовлену інтраназальну форму розфасовують по 50 мл у флаконах: з скла з гумовим корком (до флакону додається піпетка.) або у безпропелентну аерозольну упаковку. Виготовлена інтраназальна форма підлягає внутрішньоаптечному контролю якості згідно з методичними рекомендаціями «Вимоги до виготовлення нестерильних лікарських засобів в умовах аптек» (МОЗ України 2005, видання офіційне друге доповнене й перероблене, затверджені наказом МОЗ України № 398 від 01.07.2015 р.) та вимог ДФУ.

8.4 Доклінічне дослідження інтраназальної форми адемолу

Інтраназальні лікарські форми в практичній медицині та фармації, протягом тривалого періоду застосовувались, переважно, як засоби місцевої терапії захворювань порожнини носа. Нині, на вітчизняному фармацевтичному ринку, такі засоби представлені у вигляді крапель, спреїв, назальних гелів та інших форм випуску, загальна кількість яких значно переважає чисельність назальних засобів

для системної дії [274]. Останнім часом назальний шлях розглядають, як зручний та перспективний шлях надходження в організм лікарських засобів, що володіють резорбтивною дією. Даний спосіб має ряд переваг та може бути використаний для введення в організм препаратів, які випускаються виключно у вигляді ін'єкційних розчинів. Зокрема, лікарський засіб не метаболізується печінкою, оскільки через епітелій порожнини носа відбувається всмоктування та потрапляння активної речовини безпосередньо в системний кровотік. При цьому виключається вплив першого проходу через печінку, агресивна дія на шлунково-кишковий тракт пацієнта, підвищується біодоступність препарату. Такий шлях є неінвазивним, не потребує участі медичного персоналу та спеціальної підготовки і може бути використаний як в гострому періоді захворювання в умовах стаціонару, так і в подальшому – амбулаторно, що в свою чергу, має ще цілий ряд економічних переваг та високу комплаєнтність лікування. Нині розроблені назальні форми засобів системного впливу у вигляді спреїв (суматриптан, золмітриптан, десмопресин, кальцитонін нафарелін та бусерелін, діазепам, налоксон, нікотин, окситоцин тощо); гелів (наприклад, гель із вітаміном В12); назальні порошки (суматриптан, глюкагон), вакцини, препарати серцево-судинної дії [421]. Особливо перспективним є використання назального шляху для транспортування активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) безпосередньо до головного мозку [214].

Дане дослідження проведене як фрагмент науково-дослідної роботи Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова у співпраці із кафедрою технології ліків Запорізького державного медичного університету.

Визначення рухової та пошукової активності проводилося на 7 добу після СК за допомогою методики «Відкрите поле» з використанням арени власного виробництва з розмірами 80x80x35см, як зазначено раніше. Тварина містилася біля середини однієї зі сторін мордою до стінки, після чого йому протягом 8 хвилин дозволяли вільно пересуватися по арені. Ми оцінювали загальну пройдену

відстань (см), загальну рухову активність (cm^2/c), структуру активності (висока, низька активність, неактивність, %), кількість завмирань і входжень у центр, відстань, пройдена біля стінки (см) та в центральній області арени (см, %), швидкість руху, час затримки перед входом до центру, кількість подій грумінгу, кількість актів дефекації.

Оцінюючи специфічні показники методики «відкрите полі» було виявлено, що моделювання СК негативно впливало на поведінкові характеристики тварин. Так, СК призводило до достовірного зниження загальної активності тварин у 3 рази, зниження пройденої відстані тваринами у 2 рази. Також у тварин контрольної групи виявлено збільшення пройденої відстані на периферії (біля стінок та кутів) у 2,3 рази та зменшення пройденої відстані перед перетином кордону периферія-центр (тінь-світло) у 2,43 рази та зменшення пройденої відстані у освітленому центрі у 3,8 разів. Тварини малорухливі, малоактивні, тривожно-агресивні, слабо орієнтовані у просторі. Моделювання СК призводило до достовірного підвищення неактивності при переході з темного поля арени на освітлену частину арени в 2 рази, що свідчить про зниження пошукової та дослідницької активності, а також про збільшену тривожність і страх. На 7-му добу після СК у тварин зросла тривалість (в 1,67 разів) неактивності біля стінки, що також показує пригнічення дослідницької активності та формування депресії. У тварин після СК реєстрували в 3 рази більше кількості завмирань, і збільшувало нерухомість тварин у 2,46 разів при переході з периферії до центру (тривога, страх, дезорієнтація), а також зниження швидкості пересування у освітленому центрі арени у 5,86 разів. У тварин із СК реєстрували зниження високої активності та низької активності, що також свідчило про придушення у них дослідницької функції ЦНС, а також про формування тривожності та збудливості у тварин після моделювання СК. Моделювання ВК не впливало на кількість вільних стійок тварин, але призводило до збільшення стійок біля стінки. Також знижувалась кількість актів короткого грумінгу на тлі незміненої кількості тривалого грумінгу.

Цей факт також свідчить про підвищену тривожність, збудливість, дратівливість тварин, зниження почуття комфорту та депресії. Підтвердженням цього факту свідчило зменшення у 7 разів короткого грумінгу та у 3,5 разів актів дефекацій. У тварин контрольної групи зазначене вище зниження високої активності свідчить про низьку емоційність та збудливість тварин. Зниження високої та низької активності також може розцінюватися як зниження когнітивних здібностей, так як щур не здійснює рухів, спрямованих на засвоєння нової обстановки. Отримані нами дані лежать у руслі концепції формування когнітивної дисфункції після гострого порушення мозкового кровообігу по ішемічному та геморагічному типу, ЧМТ. Беленічев І.Ф. у власних дослідженнях показав, що СК призводить до формування стійкого когнітивного дефіциту, а також психо-емоційних порушень - загальмованість, страх, тривожність, дезорієнтація, агресивність, дратівливість. Однією з головних причин порушення когнітивних функцій при СК вважають глутаматну ексайтотоксичність, оксидативний стрес, нейроапоптоз, дисфункцію мітохондрій та енергетичний метаболізм. Введення відразу після виходу тварин з наркозу німотопа, а також нової лікарської форми нейропротектора Адемол-гелю інтраназального гелю по-різному впливало на поведінкові реакції, емоційний статус та когнітивно-дослідні функції тварин.

Так, Адемол-гель достовірно знижував пройдену відстань у зоні - кордон-периферія в 2, 3 рази збільшував (причому за впливом на цей показник достовірно перевершував Німотоп). Адемол-гель достовірно підвищував акти короткого грумінгу та дефекацій у 3,3 рази та 2,67 разів відповідно, а також знижував у 1,75 разів кількість загального завмирання. Все це свідчило про зниження тривожності та депресивної поведінки, агресивності та підвищення емпатії у експериментальних тварин. Адемол-гель достовірно підвищував в 1,88 раз тривалість високої активності (обстеження об'єктів вище за підлогу арени та кількість стійок біля стінки), що свідчило про відновлення саме активного компонента дослідницької активності, пов'язаної з поліпшенням когнітивних

функцій ЦНС після СК. Щури після СК, які отримували Адемол-гель були більш рухливі, виявляли більший інтерес, порівняно з контрольними тваринами, до навколишнього середовища.

Таблиця 8.3 - Вплив досліджуваного препарату на показники поведінки та орієнтовно-дослідницької активності тварин у відкритому полі на 7 добу після ВК

| Показник | СК (контроль) (n=5) | Німотоп (n=7) | Адемом-гель (n=7) | Хибнооперовані тварини (n=10) |
|---|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Загальна активність, см ² /с | 12836,20±1354,02 ¹ | 13736,57±1843,07 ¹ | 23497,03±9883,61 | 39592,10±3692,40 |
| Грумінг короткий, од | 1,00±0,00 ¹ | 2,29±0,76 ^{1*} | 3,29±1,70 ^{1*} | 7,10±0,57 |
| Дефекація, од | 0,80±0,84 ¹ | 1,71±0,76 [*] | 2,14±1,07 [*] | 2,80±0,42 |
| Відстань у зоні – кордон-периферія, см | 480,42±125,47 ¹ | 553,32 ±190,97 ¹ | 280,66±53,12 ^{*2} | 207,36±50,63 |
| Відстань від периферії доцентру, см | 1684,07±739,23 ¹ | 1792,67±836,27 ¹ | 2618,32±1662,85 | 4103,54±555,48 |
| Відстань в центрі, см | 66,84±19,45 ¹ | 120,32±13,57 ^{1*} | 161,21±54,58 [*] | 249,67±41,27 |
| Загальна відстань, см | 2026,04±696,53 ¹ | 2495,38±557,79 ¹ | 2751,73±356,56 ¹ | 4148,40±507,26 |
| Тривалість високої активності, % | 9,24±1,40 ¹ | 12,94±4,33 | 17,44±2,71 [*] | 18,79±2,16 |
| Тривалість низької активності, % | 40,70±9,88 ¹ | 37,13 ±13,62 ¹ | 50,56±9,10 | 61,99±7,95 |

Продовження таблиці 8.3

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|------------|
| Загальна тривалість | 230,25±73,99 ¹ | 108,33±30,21 ^{1*} | 76,73±20,93 [*] | 50,30±9,24 |

| | | | | |
|--|---------------------------|---------------------------|----------------|--------------|
| нерухомості (сек) | | | | |
| Максимальна швидкість руху у центрі (см ² /с) | 29,59±13,28 ¹ | 178,31±40,09* | 199,52±45,16* | 169,08±33,82 |
| Перша затримка під час заходу в центр, сек | 92,04±8,17 ¹ | 79,39±13,87 ¹ | 68,12±12,62* | 47,42±6,01 |
| Тривалість неактивності у внутрішній периферії, % | 52,00±4,53 ¹ | 40,14±5,49* | 33,43±6,21* | 31,40±3,50 |
| Тривалість неактивності межа перифірія-центр, % | 32,00±5,05 ¹ | 38,14±24,75 | 19,86±5,30 | 13,80±9,91 |
| Загальне завмирання, од | 832,35±69,91 ¹ | 734,17±78,34 ¹ | 476,00±158,95* | 278,81±50,41 |

Примітка 1. * – достовірна відмінність (p<0,05) порівняно з групою контролю.

Примітка 2. ¹ – достовірна відмінність (p<0,05) порівняно з групою інтакту

У тварин після СК, які отримували Адемол-гель, знижувалась тривожність і страх про що свідчило зниження часу першої затримки при заході в центр на 26%. Тварини, які отримували Адемол-гель після СК протягом 7 діб, до закінчення лікування були більш орієнтовані і більш вільно переміщалися у освітленій частині арени. Так, у них у 6,8 разів збільшилася швидкість пересування освітленим центром. Адемол-гель достовірно на 67% знижував час загальної нерухомості. Таким чином, введення тварин після СК Адемол-геля надавало сприятливу дію щодо емоційного статусу та поведінки тварин у відкритому полі – зниження тривожності, агресивності, депресивної поведінки на тлі підвищення комфортності, емпатії тварин. Адемол-гель приводив до нормалізації загальної активності та орієнтовно-дослідницької активності тварин після СК. Подібну дію Адемола-геля можна розглядати з позицій фармакології активного компонента Адемола. Адемол здатний модулювати поліаміновий сайт NMDA, знижувати гіперзбудливість NMDA, зменшувати ексайтотоксичність та зберігати життєздатність нейронів гіпокампу і сенсомоторної кори (Степанюк Г.І., Ходаковський А.А., 2008-2019). Також роботами професора О.О. Ходаковського та його учнів встановлено, що Адемол здатний підвищувати афінність ГАМК рецепторів, що призводить до зниження тривожності та страху та надає препарату анксиолітичного ефекту. Адемол здатний забезпечити ендотеліотропну дію – зменшити агрегацію тромбоцитів, підвищити експресію NOS. Також, в дослідженнях Беленічева І.Ф, Павлова С.В., було виявлено у похідних адамантану мітопротективну та енерготропну дію.

Введення щурам з СК німотопа мало менш виражену позитивну дію на психо-емоційну поведінку тварин після СК та їх пошуко-рухову активність. Німотоп не впливав на показники загальної активності та не збільшував загальну пройдену відстань. Тварини, які отримували Німотоп, були малоактивні, більш тривожні і агресивні. У групі німотопа не було виявлено збільшення пошукової та орієнтовної активності. Деякі показники тривожності та малої орієнтовної

активності були достовірно гіршими, ніж у групі тварин, які отримували після СК Адемол-гель. Можливо, Німотоп, як первинний нейропротектор, у гострий період СК реалізує свій ефект виключно спрямований на збереження життя нейронів, не впливаючи на поведінкові та когнітивні функції ЦНС. Крім того, у блокаторів кальцієвих каналів виявлено ПР – депресії, сонливість, диплопії, порушення орієнтації.

Одним із етапів вивчення впливу Адемол-гелю на процеси нейродеструкції при ЧМТ була оцінка концентрації білка S 100 та нейрон-специфічної енолази (NSE).

Для більш детальної оцінки церебропротективного впливу досліджуваних препаратів на інтенсивність деструктивних змін у нейронах головного мозку стежили за динамікою NSE, яка є одним із найбільш ранніх показників ушкодження нейронів. Нейрон-специфічна енолаза є гліколітичним ферментом, його можна виявити у клітинах нейроендокринної системи людини, нейронах. Якщо нервову систему вражає захворювання, що призводить до прискореної загибелі нейронів, концентрація ферменту різко зростає. Цей показник може бути використаний для прогнозу відновлення пошкоджених нейронів головного мозку.

Зміни концентрації нейрон-специфічної енолази (NSE) та протеїну S100 у сироватці крові прогностично значущі лише при первинному пошкодженні головного мозку [35]. Прогностичними ознаками несприятливого результату вважаються дворазове збільшення концентрацій NSE та протеїну S100 у сироватці крові в перші 24 години після дії причинного фактора та відсутність їх нормалізації протягом наступних 3 днів. Так, підвищення концентрації білка NSE $> 12,0$ мкг/л та протеїну S100 > 150 нг/мл збільшує ризик смерті за APACHE II на 26,6 та 34,2% відповідно [349, 352].

Доведено, що концентрація NSE є чітким аксональним маркером ушкодження, оскільки підвищується у сироватці крові через 2 години при експериментальній черепно-мозковій травмі (ЧМТ) у щурів та через 1,5 години

при ЧМТ у людей. При пошкодженні структури клітини NSE вивільняється у позаклітинний простір та цереброспінальну рідину з подальшим рухом через субарахноїдальний простір до мозкових вен та потраплянням у кровотік. Швидкість цього руху визначається розміром пошкодженої нервової тканини [131, 403].

У проведеному дослідженні було встановлено, що у тварин з СК рівень NSE був вищим ($9,586 \pm 0,449$ мг/мл) у порівнянні з інтактними щурами ($0,274 \pm 0,09$ мг/мл), що свідчить про яскраво виражені нейродеструктивні процеси в головному мозку. Використання досліджуваного препарату та препарату порівняння показало зменшення концентрації NSE: $4,543 \pm 0,704$ мг/мл у німотопа та $3,223 \pm 0,762$ мг/мл у адемол-гель. Як бачимо з отриманих результатів на німотоп концентрація NSE зменшилася в два рази а на адемол-гель в три рази ($p < 0,05$). Адемол-гель, що використовується для нейропротекції, показав хороші результати для утримання нейродеструктивних процесів у нейронах головного мозку (Табл. 8.4.2).

Як маркер запалення, що бере участь у механізмах вторинного пошкодження головного мозку, визначали IL-1b. Інформативну важливість цього маркера підтверджено роботами, якими виявлено кореляційний взаємозв'язок між підвищенням рівня IL-1b, ступенем тяжкості неврологічних порушень та дефіцитом ростових факторів (BDNF, IGF-1, PDGF).

У проведеному дослідженні було встановлено, що у тварин з СК рівень IL-1b був вищим ($3,184 \pm 0,608$ мг/мл) у порівнянні з інтактними щурами ($0,341 \pm 0,079$ мг/мл), що свідчить про яскраво виражені процеси запалення в головному мозку. Використання досліджуваного препарату та препарату порівняння показало зменшення концентрації IL-1b: $1,063 \pm 0,24$ мг/мл у німотопа та $0,943 \pm 0,343$ мг/мл у адемол-гель. Як бачимо з отриманих результатів на німотоп концентрація IL-1b зменшилася в два рази а на адемол-гель в три рази ($p < 0,05$) (табл. 8.4).

Встановлено, що у тварин з СК рівень S100 був вищим ($0,923 \pm 0,036$ мг/мл) у порівнянні з інтактними щурами ($0,084 \pm 0,022$ мг/мл), що свідчить про виражені

нейродиструктивні процеси запалення в головному мозку. Використання досліджуваного препарату та препарату порівняння показало зменшення концентрації S100: $0,341 \pm 0,073$ мг/мл у німотопа та $0,231 \pm 0,08$ мг/мл у адемом-гель. Як бачимо з отриманих результатів на німотоп концентрація S100 зменшилася в три рази а на адемом-гель в чотири рази ($p < 0,05$) (табл. 8.4, рис. 8.1).

Таблиця 8.4 - Вплив досліджуваного препарату на біохімічні показники стану нервової тканини тварин, що досліджуються

| Показатель | NSE,мг/мл | S100,нг/мл | IL-1b,нг/мл | Нітротирозин, нг/мл |
|-------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|
| Інтакт | $0,274 \pm 0,09$ | $0,084 \pm 0,022$ | $0,341 \pm 0,079$ | $0,932 \pm 0,18$ |
| СК | $9,586 \pm 0,449$ | $0,923 \pm 0,036$ | $3,184 \pm 0,608$ | $10,123 \pm 0,861$ |
| Німотоп | $4,543 \pm 0,704$ | $0,341 \pm 0,073$ | $1,063 \pm 0,24$ | $5,947 \pm 0,482$ |
| Адемом гель | $3,223 \pm 0,762$ | $0,231 \pm 0,08$ | $0,943 \pm 0,343$ | $3,619 \pm 0,749$ |

Зміни відносно хібно-оперованих тварин (рази)

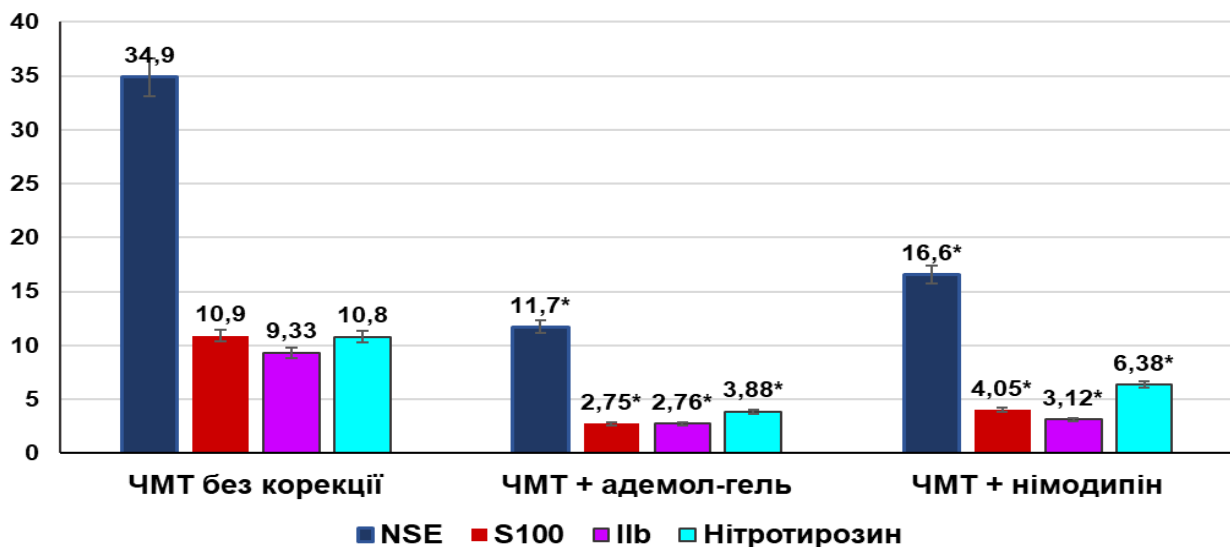


Рис. 8.1. Вплив адемом-гелю та німодипіну на біохімічні показники стану нервової тканини щурів на 7 добу після експериментальної ЧМТ (n=7).

Аналізуючи отримані дані дослідження можна чітко відзначити наявність церебропротективних властивостей створеної назальної форми лікарського засобу на основі адемолу, що підтверджують зменшення концентрації IL-1b: зменшилася в два рази а на адемол-гель в три рази ($p < 0,05$), зменшення концентрації S100: зменшилася в три рази а на адемол-гель в чотири рази ($p < 0,05$). Адемол-гель показав хороші результати для утримання нейродеструктивних процесів у нейронах головного мозку: на німотоп концентрація NSE зменшилася в два рази а на адемол-гель в три рази ($p < 0,05$).

Перелік публікацій, в яких висвітлено основні матеріали даного розділу: [214, 433].

РОЗДІЛ 9

АНАЛІЗ УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ПРОВЕДЕНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Вирішення проблеми ускладнень від ЧМТ в сучасній медичній практиці займає ключове місце, дана патологія набула масштабів «тихої епідемії», статистичні дані стверджують: щорічно в світі понад 10 млн людей помирає або шпиталізується в зв'язку з ЧМТ [54, 333, 422]. Актуальності даній проблемі додає саме те, що на дану патологію страждає велика кількість осіб молодших 45 років [225, 313, 423]. Кількість важких ЧМТ, а як наслідок важких інвалідизацій та смертності щороку зростає, так на сьогодні 9% смертності населення в світі припадає на ЧМТ [122, 389]. Україна не є виключенням статистичної характеристики щодо ЧМТ [336].

Сучасні можливості нейрохірургії та фармакології не можуть контролювати патофізіологічний каскад ЧМТ за допомогою застосування відомих хірургічних підходів та фармакологічного арсеналу ЛЗ, що входять в сучасні рекомендації щодо лікування хворих з ЧМТ [174]. Визначення чіткої методики первинної та/або вторинної церебропротекції за участю фармакологічних, хірургічних та фізичних методик на сьогодні залишається предметом дискусій великої кількості науковців [192].

Відповідно сучасних даних літератури [171], проблема клінічної доцільності та патогенетично обгрунтованої необхідності використання церебропротекторів при ЧМТ залишається не вирішеною та опиняється постійно на піку дискусій, щодо необхідності застосування цієї групи препаратів як у фармакологів так і у практичних лікарів. Визначення доцільності призначення пацієнтам з ЧМТ конкретних ЛЗ та застосування чітких терапевтичних схем у складі інтенсивної терапії травматичного пошкодження ГМ, котрі б могли гармонійно вписуватися у патогенез ЧМТ та в подальшому ефективно зменшувати летальність та

інвалідизацію пацієнтів з даною патологією, безперечно, є предметом дискусії сучасної нейрофармакології. Одним із доступних та найбільш оптимальних варіантів вирішення даної проблеми на сьогодні, на нашу думку, є пошук та застосування нових церебропротекторів, які б несли у собі низку фармакологічних ефектів та чітко вписувалися у патогенез травматичного пошкодження ГМ [402].

Церебропротектори можуть зменшувати пошкодження та запобігати загибелі нейронів ГМ в умовах ЧМТ [402]. Одним з ключових та найважливіших механізмів патогенетичного пошкодження при ЧМТ на думку науковців є запуск реакцій глутамат-кальцієвого каскаду. У формуванні цього феномену виділяють три основні та послідовні механізми — індукцію, ампліфікацію (розвиток глутаматної ексайтотоксичності з наступним лавиноподібним потраплянням іонів Ca^{2+} до нейронів) та експресію, під час якої ініціюється оксидативний стрес [14, 43].

В залежності від початку корекції ЧМТ за допомогою нейроцитопротекторів патогенетичного шляху травматично пошкодженого ГМ церебропротекторна терапія поділяється на первинну та вторинну. На думку науковців, перш за все, ефектом первинної церебропротекції має бути переривання швидких реакцій глутамат-кальцієвого каскаду. Сучасна нейрофармакологія одні з найбільших сподівань у цьому напрямку покладає на блокатори NMDA-рецепторів. Варто зазначити, що ефективність впливу на відстрочені механізми нейрональної загибелі безпосередньо залежать від ступеню гальмування глутаматної ексайтотоксичності, котра і запускає лавиноподібним чином всі процеси вторинного пошкодження [207, 296].

Вторинна церебропротекція спрямована на блокаду прозапальних цитокінів, молекул клітинної адгезії, гальмування прооксидантних ферментів, відновлення нейротрофіки та переривання апоптозу. На думку багатьох дослідників ключовим в церебропротекції при ураженнях ГМ є час початку терапії та вплив на ключові ланки патогенезу пошкодження ГМ [180].

Метою нашої роботи було експериментально обґрунтувати можливість підвищення ефективності первинної церебропротекції при черепно-мозковій травмі, шляхом застосування модулятора поліамінового сайту NMDA-рецепторів – сполуки похідної адамантану 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (умовна назва Адемол) за новим призначенням, а саме при ЧМТ із подальшим встановленням нових патогенетично обґрунтованих фармакодинамічних аспектів впливу препарату на травматично пошкоджений головний мозок.

Адамантани володіють широким спектром фармакологічних властивостей (протівірусною, антигіпоксичною, протиішемічною, анксиолітичною, адаптогенною, нейро-, акто- та термопротекторною) [2, 245, 358]. Тому, на нашу думку, перспективною для вивчення була б нова сполука похідна адамантану 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (лабораторний шифр ЮК-1, умовна назва Адемол).

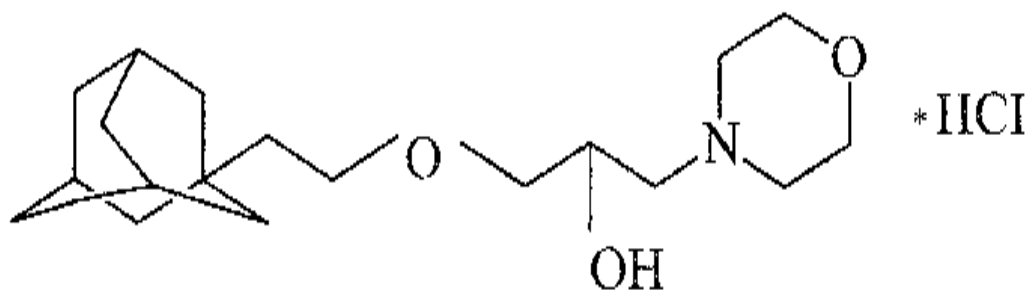


Рис. 9.1. 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (лабораторний шифр ЮК-1, умовна назва Адемол).

Стимулом для вивчення та поглибленого дослідження церебропротекторної дії адемола при ЧМТ стали дані про те, що він є низькоафінним неконкурентним блокатором поліамінового сайту NMDA-рецепторів іонофорного комплексу пірамідних нейронів гіпокампу з дуже швидкою кінетикою деблокади NMDA-

рецепторів [245].

Дані попередніх досліджень показують, що адемола володіє комплексним впливом, проявляючи властивості як первинного, так і вторинного церебропротектора, зі значними перевагами, порівняно з іншими, представленими на сучасному фармацевтичному ринку, нейропротекторами [133], але вивчення впливу 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (Адемола) на перебіг ЧМТ не проводився.

На сьогодні існує багато запатентованих, експериментально обґрунтованих моделей ЧМТ. Але, незважаючи на існування уже відомих моделей ЧМТ у тварин, на сьогодні не існує експериментальної загальноновизнаної моделі, що давала б можливість визначити тяжкість ЧМТ [45, 424].

Одним з перспективних завдань сучасної експериментальної фармакології, на думку авторів є стандартизація експериментальних моделей за тяжкістю нозологій. Тому, в зв'язку з відсутністю запатентованих ЧМТ з чітким диференціюванням за ступенями важкостями [45, 424], однією із задач нашої роботи було розробити нову еталонну модель ЧМТ з чітким розподіленням вказаної нозології за ступенями тяжкості для дослідження впливу різних ЛЗ та методик лікування на доклінічному етапі досліджень.

Незважаючи на щорічне зростання кількості друкованих наукових робіт вітчизняних та закордонних вчених у галузі нейропатофізіології та фармакології, які присвячено всебічному висвітленню біохімічних, молекулярних, та морфологічних змін у структурах головного мозку при його травматичному пошкодженні, об'єднуючої інтегративної концепції, за допомогою якої було б можливо пояснити всі процеси, що мають місце при реалізації загибелі нейрону як структурно-функціональної одиниці центральної нервової системи (ЦНС) ще досі не створено [337, 425]. Зокрема, залишаються дискусійними питання про ефективність, раціональність та безпечність застосування блокаторів N-метил-D-аспартатних (NMDA) рецепторів у гострий період черепно-мозкової травми

(ЧМТ) в якості первинних нейропротективних агентів, а також їх фізіологічність та співставимість з патогенезом даної нозології [362].

З метою детального вивчення впливу адемоу на перебіг саме важкої ЧМТ нами була розроблена, запатентована та стандартизована експериментальна модель ЧМТ. В основу корисної моделі було поставлено завдання розробити, апробувати адекватні за важкістю та репрезентативністю моделі ЧМТ у щурів, при яких в якості уражуючого елементу було задіяно силу потоку вуглекислого газу під тиском при холостому пострілі із пневматичного пістолету [Пат. 145038 Україна, МПК А 61 В 17/00, G 09 В 23/28, G 01 № 33/48.].

Травматичне пошкодження ГМ досягалося способом, який полягав в тому, що шляхом дії потоку вуглекислого газу під тиском із використанням газобалонного пневматичного пістолету марки «Байкал МР-654К» здійснювалася ЧМТ.

З метою спростування чи підтвердження негативного впливу формування трепанаційного отвору у щурів була відібрана група псевдооперованих тварин. Проведене дослідження показало, що у псевдооперованих щурів, яким в умовах пропофолового наркозу здійснювали трепанацію черепа за кістково-пластичною методикою летальність упродовж першої доби була відсутньою. Це вказує на той факт, що оперативне втручання не призводило до порушення діяльності мозку та інших вітальних органів і систем, яке може призвести до смерті тварини.

З метою розробки та стандартизації нової моделі ЧМТ, яка б визначала ступені важкості ЧМТ щурам в умовах пропофолового наркозу, після катетеризації стегнової вени та налагодження можливості здійснювати інфузію через інфузомат, здійснювали правобічну кістково-пластичну трепанацію черепа в проекції середньої мозкової артерії, з діаметром отвору 5 мм². Після фіксації щура в положенні на животі вниз головою здійснювали постріл з фіксованої відстані (0-0,5-1 см) після чого кістковий фрагмент на окісті разом із апоневрозом, повертали на місце і рану зашивали пошарово.

Так, у щурів із моделлю ЧМТ, яка була викликана пострілом з пневматичного пістолету впритул до трепанаційного отвору в черепі упродовж першої доби відмічалось прогресуюче збільшення показника летальності: більше половини тварин (60%) загинуло упродовж перших 6 год від початку спостереження, що можна вважати за критичний період для даної патології. В подальшому цей показник зростав, і вже через 20 год становив 80% ($p < 0,05$).

Нарощення відстані пострілу до 0,5 та 1 см закономірно знайшло своє віддзеркалення у збільшенні виживаності щурів із моделлю ЧМТ. Так, фіксоване віддалення дульного зрізу пневматичного пістолету від проекції трепанаційного отвору на 5 мм (0,5 см), супроводжувалось першими вірогідними змінами починаючи вже з 4 год експерименту, коли показник летальності щурів був меншим відносно попередньої моделі в середньому на 30% ($p < 0,05$). Таке відсоткове співвідношення було закономірним і зберігалось у всі наступні терміни реєстрації смертності і мало достеменний характер із вірогідністю 99,95%.

Додаткове збільшення відстані холостого пострілу ще на 5 мм, тобто 1 см від трепанаційного отвору в перші 12 год експерименту не супроводжувалось зменшенням летальності щурів із ЧМТ. Однак, упродовж наступних годин (починаючи з 16 год), мало місце достеменне підвищення виживання, яке як і за попереднього дизайну становило в середньому 30% і зберігалось упродовж доби.

Таким чином, за динамікою показника летальності, можна зробити висновок, стосовно класифікації ступеня важкості ЧМТ, який зростає від легкого до важкого в залежності від відстані пострілу, відповідно від 1 до 0 см (впритул).

З метою підтвердження чи спростування динаміки перебігу ЧМТ за ступенем важкості було прийнято рішення дослідити кореляцію важкості ЧМТ з рівнем маркера ушкодження головного мозку за динамікою нейронспецифічної енолази (NSE) [345].

Отримані дані динаміки NSE на 24 год після травми при холостому (лише вуглекислий газ під тиском) пострілі із пневматичного пістолету впритул (0 см) до

центру трепанаційного отвору показали достовірне збільшення активності маркера мембранної цілісності нейронів, так його рівень вірогідно ($p < 0,05$) підвищився відносно значень у псевдооперованих тварин у середньому в 17,5 рази. При цьому подовження відстані пострілу на 0,5 см та 1 см, знайшло своє достовірне закономірне віддзеркалення у послабленні нейродеструктивних змін в мозку (рівень NSE зменшувався), які, попри це, зберігають статистично вірогідні критерії, вказуючи тим самим на адекватність даної моделі для формування ЧМТ. Тому, відповідно до рівня NSE, саме відстань в 0 мм (постріл впритул) до трепанаційного отвору з подальшим моделюванням ЧМТ через постріл з пістолета відповідала тяжкій експериментально змодельованій ЧМТ.

Апробацію розробленої нами моделі ЧМТ та класифікації ступенів її важкості в залежності від дії альтеруючого чинника, було доцільним оцінити за динамічними змінами неврологічного статусу щурів у критичний період експерименту (6 год при пострілі впритул) та наприкінці експерименту (8 доба спостереження).

Для визначення наявного неврологічного дефіциту у щурів різних груп із ЧМТ використовували шкалу stroke-index С.Р. McGraw [154], яка адаптована для щурів та була використана у нашому дослідженні. Згідно авторській класифікації важкість стану можна визначити за сумою відповідних балів: до 3 балів – легкий ступінь, від 3 до 7 балів – середній ступінь, вище 7 балів – тяжкий ступінь неврологічного дефіциту.

Отримані результати свідчать, що у всіх групах спостереження ЧМТ у щурів викликала тяжкі неврологічні зміни: паралічі, парези, птоз із максимальним проявом на 24 год. Моделювання експериментальної ЧМТ із пневматичного пістолету впритул до центру трепанаційного отвору показало, що на 6 год після моделювання патології, середній бал за шкалою С.Р. McGraw складав 9,3 бали, що відповідає тяжкому ступеню неврологічної симптоматики. Наприкінці експерименту (8 доба спостереження) неврологічний статус тварин цієї групи ще

більше погіршився і становив в середньому $14,3 \pm 0,54$ бали. Тому, відповідно класифікації С.Р. McGraw умови моделювання травми за таким дизайном, забезпечує формування неврологічного дефіциту тяжкого ступеня, що співпадає із нашою класифікацією ЧМТ, розробленою на основі летальності та нейромаркерної активності. При цьому, збільшення відстані дії травмуючого фактору до 0,5 та 1 см проявлялося у послабленні неврологічного дефіциту з тяжкого до легкого ступеня, яким відповідали середні бали за шкалою С.Р. McGraw станом на 24 год ЧМТ відповідно: $10,1 \pm 0,37$ та $9,1 \pm 0,27$.

Повертаючись до мети нашого дослідження основою якої було вивчити патогенетичні впливадемолу як первинного цербропротектора на перебіг ЧМТ у щурів та те, що адемом є низькоафінним неконкурентним блокатором NMDA-рецепторів, тобто його можливий патогенетичний вплив пов'язаний з блокадою NMDA-рецепторів препаратами вибору, як препарати порівняння були обрані амантадин сульфат («ПК-Мерц», Merz Pharmaceuticals, Швейцарія, 1 флакон 500 мл концентрацією 200 мг/500 мл) та магнію сульфат («Магнія сульфат-Дарниця», Дарниця, Україна, 10 ампул по 5 мл концентрацією 250 мг/мл)

Відповідно даних літератури [31, 1145] амантадин сульфат і магнію сульфат володіють спорідненістю до NMDA-рецепторів. Так, основний ефект дії амантадину при ЧМТ ґрунтується на блокуванні NMDA-рецепторів глутамату, підвищенні синтезу дофаміну в нігральних нейронах, посиленні вивільнення дофамінових везикул в синаптичну щілину і блокуванні зворотного захоплення дофаміну в пресинаптичні терміналі, м'якій холіноблокуючій дії [115]. Науковці вважають, що амантадин є неконкурентним антагоністом NMDA- та дофамінових рецепторів [31, 115, 348].

Магній сульфат здатен через іони Mg^{2+} блокувати NMDA-асоційовані канали потенціалзалежним способом і, вступаючи з глутаматом в неконкурентний антагонізм, пригнічують його вивільнення, гальмуючи ексайтотоксичність [78, 343], що при ЧМТ може впливати на перебіг та розвиток ускладнень.

Для подальшого вивчення дії основного досліджуваного фармакологічного засобу, а саме сполуки 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (Адемола) та об'єктивної, ґрунтовної та змістовної порівняльної оцінки дії Адемола та референтних препаратів: амантадину сульфату, маґнію сульфату була використана модель ЧМТ лише важкого ступеня тяжкості (тобто постріл з пістолета впритул). Група контрольної патології отримувала парантерально 0,9% розчин NaCl в об'ємі (2 мл/кг) еквівалентному до об'єму досліджуваних препаратів. Псевдооперованих тварин піддавали всім втручанням (наркоз, розріз шкіри, кістково-пластична трепанація черепа) за виключенням маніпуляцій, які безпосередньо могли б призвести до травматичного ураження мозку, що нівелювало вплив травматичних умов експерименту. Псевдооперованим тваринам також вводили еквівалентну кількість 0,9% розчину NaCl.

Введення досліджуваних розчинів відбувалось шляхом внутрішньовенної інфузії інфузоматом, яка тривала 2 год з інтервалом 2 р/д (через кожні 12 год) впродовж 8-ми діб (кінець гострого періоду ЧМТ). Лікувальне введення розчинів починали через 1 год після моделювання патології зважаючи на те, що переважна більшість хворих поступає до лікувального закладу протягом 40-90 хв. після отримання ЧМТ та враховуючи терміни і послідовність розвитку патогенетичного каскаду уражень [211, 355].

Терапевтичну дію Адемола за модельної ЧМТ оцінювали при його застосуванні окремими дозами 1, 2 та 4 мг/кг. Відправною точкою для пошуку умовно-ефективної дози стала доза, яка проявила свою найбільшу ефективність при модельному ГПМК за ішемічним типом у щурів [287].

У якості референс-препаратів використовували блокатор поліамінового сайту NMDA-рецепторів розчин амантадину сульфат в дозах для пошуку умовно-ефективної дози 2,5; 5 та 10 мг/кг в/в; та іонотропний блокатор NMDA-рецепторів розчин маґнію сульфата в дозах для пошуку умовно-ефективної дози 200; 250 та 300 мг/кг в/в. Відправною точкою для дозування референс-препаратів були

рекомендовані дози досліджуваних ЛЗ з літератури відповідно для магнію сульфату: 250 мг/кг та амантадину сульфату: 10 мг/кг [2, 185] за відповідними до дизайну експериментальними схемами. Всі досліджувані групи отримували еквівалентну по об'єму кількість досліджуваних препаратів.

Первинними критеріями церебропротекторної ефективності при терапії Адемолем та референс-препаратами в умовах модельної ЧМТ обрано термін загибелі щурів (у годинах) їх летальність (у %) та динаміка неврологічного статусу [125].

Сучасні підходи лікування ЧМТ, а саме інтенсивна терапія даної патології включає в себе ряд заходів, що направлені на спроможність попереджати розвиток та корегувати прояви порушення гомеостазу, що розвиваються на фоні травматичного пошкодження ГМ. Одним із проявів найбільш частих ускладнень, що супроводжують ЧМТ є вторинна гостра церебральна ішемія, тому вибір ЛЗ при травматичних ушкодженнях ГМ є однією з найбільш складних проблем в комплексі лікування хворих з ЧМТ [402].

Моделювання кістково-пластичної трепанації у місці проекції правої середньої мозкової артерії без здійснення холостого пострілу (група псевдооперованих тварин, тобто без моделювання ЧМТ) та введення 0,9% розчину NaCl, як референс-препарату, упродовж усього терміну спостереження не показала жодного випадку летальності, що вказувало на задовільну оперативну техніку та відсутність негативного впливу фізіологічного розчину на організм щура.

Оцінка церебропротекторних властивостей адемолу, амантадину сульфату та магнію сульфату за критерієм їх спроможності знижувати летальність щурів з ЧМТ важкого ступеня, свідчить про наявність у них нейропротективної активності в умовах даного патологічного стану. Суттєві терапевтичні ефекти спостерігалися при 8-денному застосуванні адемолу в дозах 1 та 2 мг/кг (летальність відповідно 35 та 30%). Так, упродовж 8 діб модельної ЧМТ на фоні лікування адемолем

аналіз ефективності застосування даного препарату та скринінг умовно-ефективної церебропротективної дози адемолу за показником летальності вказує на те, що максимальна терапевтична дія досліджуваного препарату проявилась при його застосуванні у дозі 2 мг/кг ($p < 0,05$), яку можна вважати умовно-ефективною в умовах даного патологічного стану. Підвищення, аналогічно, як і зменшення цієї дози удвічі – не знайшло віддзеркалення у вірогідному зменшенні летальності порівняно з дозою 2 мг/кг.

Порівняльний аналіз використання різних доз 0,9% NaCl при ЧМТ (група контрольної патології), а саме: 1; 2 та 4 мл/кг вказує на відсутність достовірної різниці летальності при міжгруповому порівнянні ($p > 0,05$), тому псевдооперовані тварини отримували 0,9% розчин NaCl із розрахунку до найбільш ефективної по об'єму дози адемолу – 2 мл/кг в/в.

У щурів групі контрольної патології (ЧМТ+0,9% розчин NaCl) показник летальності складав 85% станом на 8-му добу ЧМТ.

Скринінг умовно-ефективної церебропротективної дози амантадину сульфату в дозах 2,5; 5 та 10 мг/кг показав, що вірогідної різниці в ефективності даних доз помічено не було і відповідно для проведення експерименту обрана доза 5 мг/кг, виходячи з принципу обирати дозу меншу при однаковій ефективності та відповідну (еквівалентну) по об'єму до основного досліджуваного фармакологічного засобу.

При скринінгу умовно-ефективної дози магнію сульфату, даний ЛЗ застосовувався в дозах 200, 250 та 300 мг/кг в/в. Аналізуючи отримані дані спостерігаємо збільшення летальності тварин, які отримували магнію сульфат в дозі 200 мг/кг та 300 мг/кг в порівнянні з дозою 250 мг/кг. Відповідно, при введенні доз 200 та 300 мг/кг достовірної різниці в летальності щурів не спостерігали, тому для подальшого дослідження обрана умовно-ефективна доза магнію сульфату 250 мг/кг в/в у зв'язку з найменшою летальністю при дослідженні скринінгових умовно-ефективних доз даного ЛЗ.

Міжгрупове порівняння ефективності лікування на 8 добу спостереження свідчить про достовірну перевагу застосування адемолу та максимальний прояв церебропротекторної дії препарату в дозі 2 мг/кг відповідно в порівнянні з групами щурів, які отримували терапію амантадину сульфату 5 мг/кг та магнію сульфату 250 мг/кг ($p < 0,05$).

Тому, за показником виживання тварин із ЧМТ, адемолом вірогідно переважав аналогічний ефект обох референтів: амантадину сульфату в дозі 5 мг/кг та магнію сульфату в дозі 250 мг/кг, перевершуючи їх ефективність в середньому на 33% та 83% відповідно на 8 добу спостереження.

На думку багатьох авторів, інтегративними показниками, що дозволяють оцінити якість захисного впливу потенційного нейропротектора на ушкоджений головний мозок, поряд із зменшенням летальності, є швидка ліквідація неврологічного дефіциту, що асоційовано із покращенням мнестичних функцій [211, 355], тому обґрунтованим було провести оцінку церебропротекторних властивостей інтенсивної терапії ЧМТ досліджуваними розчинами за визначеними умовно-ефективними дозами саме за динамікою неврологічного статусу щурів в порівнянні з іншими досліджуваними ЛЗ.

Неврологічний дефіцит у щурів із ЧМТ важкого ступеня тяжкості (так само як і інші функціональні та лабораторні показники) оцінювали за шкалою stroke-index С.Р. McGrow [154]. Моделювання важкої ЧМТ показало, що всі тварини групи контрольної патології (ЧМТ + 0,9% розчин NaCl) на 1 та 8 день дослідження мали тяжкий неврологічний дефіцит відповідно до балів по шкалі С.Р. McGrow. Варто зазначити, що застосування 0,9% розчину NaCl протягом 8 діб не спричиняло зменшення летальності та неврологічного дефіциту відповідно. Аналіз ефективності застосування розчину адемолу на 8 добу ЧМТ спостереження, показав вірогідне динамічне зменшення неврологічного дефіциту та достовірно переважав дію розчину амантадину сульфату на 17% та магнію сульфату на 30% (середній бал за шкалою С.Р. McGrow становив $9,40 \pm 0,29$ проти $11,00 \pm 0,31$ та $12,30 \pm 0,31$

відповідно).

Порушення когнітивних функцій та вплив досліджуваних фармакологічних засобів на їх зміни вивчали за здатністю тварин до навчання та запам'ятовування аверсивного стимулу. Для цього використовували тест умовної реакції пасивного уникання (УРПУ) і досліджували його в аналогічний період (8-ма доба) ЧМТ [416]. Так, застосування розчинів амантадину та магнію сульфату при ЧМТ дещо покращувало пам'ять, але поступалась за ефективністю адемолу, який краще наближав показники тесту УРПУ до результатів псевдооперованих тварин. Латентний період УРПУ у тварин, які отримували адемола та референс-препарати, вірогідно покращився відповідно: 11,00; 13,70 та 15,3 порівняно з контрольною групою 19,7 ($p \leq 0,05$).

Таким чином, аналіз результатів летальності та неврологічного дефіциту у щурів з важкою ЧМТ на фоні застосування референт-препаратів вказує на відсутність достовірної ефективності застосування магнію сульфату при експериментальній ЧМТ у щурів. Тому для подальших експериментальних досліджень було прийнято рішення залишити лише один препарат порівняння – амантадину сульфат.

Для подальшого визначення ефективності впливу досліджуваних фармакологічних засобів при ЧМТ на динаміку церебральної та центральної гемодинаміки використовували показники: об'ємної швидкості мозкового кровотоку (ОШМК), артеріального тиску (АТ) та центрального венозного тиску (ЦВТ) [131].

Одним з основних механізмів захисної дії церебропротекторних засобів при лікуванні ЧМТ є властивість ЛЗ покращувати мозковий кровообіг не пригнічуючи регіонарну та центральну гемодинаміку. Призначення фармакологічних засобів при ЧМТ, які можуть погіршувати центральну гемодинаміку є особливо небезпечним так як це може призвести до прогресування патологічних змін в ГМ на фоні гемодинамічного «обвалу» і, як наслідок, проявитися різкою редукцією

мозкового кровообігу через магістральні судини [292].

Одним із провідних патогенетичних механізмів, які пригнічують центральну та церебральну гемодинаміку у пацієнтів із важкою ЧМТ є формування цереб्रोкардіальної дисфункції, наслідком якої є зменшення надходження крові до мозку через порушення системного кровообігу на фоні ураження ГМ, крововтрати тощо [279].

Враховуючи важливість моменту адекватної церебральної перфузії при ЧМТ та стабільності підтримання системної динаміки у таких хворих з метою забезпечення адекватного церебрального перфузійного тиску, а також дані попередніх досліджень [38, 110, 274] про наявність у адемолу стимулюючої дії на мозковий кровообіг в умовах ішемічного та/або геморагічного інсульту, було доцільним дослідити його вплив на цей показник при ЧМТ у щурів в басейні внутрішньої сонної артерії (ВСА).

Так, аналіз використання адемолу при ЧМТ упродовж усього посттравматичного періоду показує вірогідно кращий вплив на покращення церебрального кровообігу даного фармакологічного засобу в порівнянні із застосуванням розчину амантадину сульфату, а тим більше 0,9% розчину NaCl, так на 8-день застосування ефективність адемолу вказує не тільки на кращу його дію в порівнянні з групою контролю та амантадину сульфату відповідно на: 76,2 та 34,8% ($p < 0,05$), а й на відсутність достовірної різниці в динаміці ОШМК між групою адемолу та вихідним показником.

Аналізуючи динаміку рівня АТ, як одного з показників системної гемодинаміки, можна стверджувати, що ефективність адемолу є достовірно кращою, ніж відповідна терапія ЧМТ амантадином сульфату. Так, ведення щурів адемолу умовно-ефективною дозою 2 мг/кг в/в виявилось вірогідно ефективнішим і сприяло стабілізації рівня АТ у межах фонових значень упродовж усього терміну спостереження. В групі щурів з амантадином сульфатом спостерігалось відносно стабільне зниження рівня АТ протягом усього терміну спостереження з 1 по 8 добу в

межах 21 та 25% відповідно відносно вихідного рівня та на 27 та 29% зниженим відповідно відносно групи щурів з адемолом.

Аналіз динаміки рівня ЦВТ у щурів групи контрольної патології показав, що поряд із падінням АТ має місце зниження припливу крові до правих відділів серця, що може бути пов'язаним як з порушенням центральної регуляції системної так і церебральної гемодинаміки на фоні травматичного ураження ГМ. Аналіз отриманих даних щодо зниження ЦВТ у щурів групи контрольної патології показує схожу максимальну динаміку зниження досліджуваного показника на 30,58 та 34,04% відносно вихідного рівня відповідно на 12 та 24 годину спостереження, що корелює з динамікою летальності та неврологічним дефіцитом. Лікування експериментальної ЧМТ блокаторами NMDA-рецепторів сприяло стабілізації ЦВТ, хоча на тлі введення адемолу, на відміну від амантадину сульфату, досліджуваний показник у жодному періоді експерименту вірогідно не відрізнявся від фонових значень. Варто зазначити, що група амантадину сульфату мала достовірно кращі показники рівня ЦВТ в порівнянні з групою контролю, але при цьому ж рівень досліджуваного показника був достовірно нижчим по відношенню до групи адемолу у всі терміни спостереження ($p < 0,05$).

Отже, курсова лікувальна терапія щурів із ЧМТ важкого ступеня фармакологічним засобом адемолом (2 мг/кг в/в), вірогідно краще амантадину сульфату (5 мг/кг в/в) сприяла підтриманню мозкового кровотоку на рівні максимально наближеному до вихідного, а також перешкоджала падінню основних показників, що характеризують сталість центральної гемодинаміки, що обумовлено, на нашу думку, помірними вазопресорними або ендотеліопротекторними властивостями адемолу. Виходячи з цього, одним із патогенетичних механізмів захисної дії адемолу при ЧМТ є його спроможність підтримувати достатній рівень кровопостачання головного мозку за рахунок нівелювання проявів зниження показників центральної гемодинаміки при важкій церебральній травмі.

Однією із клітинних мішеней для патогенетичного впливу на перебіг ЧМТ є використання фармакологічних агентів, які здатні протидіяти негативному впливу надлишкових концентрацій глюкокортикоїдів (тобто нівелювання глюкокортикоїдної нейротоксичності) на нейрони ГМ при цереброваскулярній патології. Високі рівні глюкокортикоїдів в ЦНС, які зберігаються тривалий час, призводять до когнітивних порушень, можуть провокувати стимуляцію розвитку деменції та інших деструктивно-дегенеративних захворювань [78]. Саме тому, одним із можливих шляхів реалізації патогенетичних засад нейропротекції при мозковій травмі може бути зменшення проявів глюкокортикоїдної ексайтотоксичності.

Було доцільним охарактеризувати вплив адемолу на рівень кортизолу, як одного із маркерів стероїдної нейротоксичності при модельній ЧМТ, так як в літературі описані стрес- та актопротекторні ефекти адемолу [270].

Аналіз впливу курсового введення адемолу на формування стероїдної нейротоксичності за рівнем кортизолу в умовах модельної ЧМТ показав, що застосована фармакотерапія попереджувала наростання рівня кортизолу в крові у тварин з ЧМТ, однак її ефективність залежала від фармакологічного засобу. У щурів, які отримували адемомол рівень кортизолу в крові коливався в межах $185 \pm 1,53$ нг/мл і був меншим в 2,58 рази ($p < 0,05$), порівняно з групою контролю. При цьому, вплив амантадину сульфату на рівень кортизолу в крові був вірогідно меншим, ніж у адемолу. За цих умов концентрація кортизолу в крові знаходилась в діапазоні $276 \pm 1,35$ нг/мл і була меншою в 1,73 рази ($p < 0,05$) порівняно з групою контролю, і на 49,2% ($p < 0,05$) перевищувала відповідний показник у щурів з ЧМТ+адемомол.

На нашу думку, отримані результати засвідчують наявність у адемолу та в меншій мірі амантадину сульфату коригувального впливу на баланс стероїдів в ЦНС. Антистероїдний ефект адемолу є важливим чинником, який забезпечує його здатність перешкоджати розвитку деструктивних змін в пошкодженому мозку та

сприяти збереженню морфофункціональної активності нейронів, що знайшло своє підтвердження й у інших розділах роботи.

Дисбаланс енергетичного обміну в уражених нейронах є однією з основних патогенетичних причин розвитку нейродегенеративних змін при ЧМТ [402]. Тому, обґрунтованим було проаналізувати стан енергетичного метаболізму в тканинах мозку щурів з ЧМТ на фоні терапії досліджуваними фармакологічними засобами.

Терапія досліджуваними розчинами стримувала формування енергодефіцитного стану в ГМ в умовах ЧМТ, покращувала процес окисного фосфорилування та його супряження з тканинним диханням. Застосування адемолу в найбільшій мірі попереджувало пертурбації в метаболізмі аденозинтрифосфатів. Так, рівень АТФ в мозку та енергетичний заряд були на 85,3 та 36,3% ($p < 0,05$) вищими, порівняно з псевдооперованими тваринами. При цьому, рівні АДФ і АМФ в мозку були меншими на 57,1 та 39,7% ($p < 0,05$), порівняно з псевдооперованими тваринами, та змінювались в межах $0,943 \pm 0,012$ та $0,639 \pm 0,032$ мкмоль/г сухої тканини (P_5 - P_{95}), відповідно. За ефективністю коригувати енергетичний обмін в мозку щурів референс-препарат амантадин сульфат значно поступався адемолу ($p < 0,05$).

За результатами численних експериментальних досліджень показано, що формування дефіциту АТФ та надлишку ди- та три фосфатів нуклеозидів в структурах ГМ при ЧМТ спричиняє активацію регуляторних ферментів анаеробного гліколізу за алостеричним механізмом. Гіперактивація гліколізу супроводжується посиленою продукцією молочної кислоти, розвитком метаболічного ацидозу, що поглиблює альтерацію клітин головного мозку за ЧМТ [98, 147].

Результати наших досліджень показали, що важка ЧМТ супроводжується активацією анаеробного гліколізу та пригніченням аеробного окиснення глюкози, доказом чого є виникнення дисбалансу між рівнем інтермедіатів лактатом та піруватом. Так, у щурів з ЧМТ відмічається статистично вірогідне зростання рівня

лактату в 3,58 рази, зниження вмісту пірувату на 56,2 % та збільшення співвідношення лактат/піруват у 8,64 рази, порівняно з псевдооперованими тваринами.

Так, застосування досліджуваних фармакологічних засобів, особливо адемолу, зменшувало активність анаеробного гліколізу, сприяло активації аеробного окиснення глюкози та зменшувало ознаки лактат-ацидозу в клітинах ГМ при ЧМТ. Застосування адемолу досить ефективно стримувало порушення аеробного окиснення глюкози на тлі ЧМТ. Так, рівень лактату був меншим у 2,7 рази, концентрація пірувату була вірогідно більшою на 111 %, а співвідношення лактат/піруват було меншим в 5,8 рази, порівняно з відповідними показниками в групі нелікованих тварин з ЧМТ. При цьому, інфузія амантадину сульфату менш ефективно, ніж адемолу, впливала на процеси аеробного метаболізму вуглеводів.

Аналіз отриманих даних по енергетичному обміну у щурів із ЧМТ, які отримували розчин адемолу в дозі (2 мг/кг в/в) більш ефективно, ніж застосування амантадину сульфату (5 мг/кг в/в), стримувало гіперактивацію анаеробного гліколізу, стимулювало процеси тканинного дихання, зменшувало ознаки лактат-ацидозу та розвиток вторинної альтерації клітин головного мозку недоокисненими продуктами. Тому, з отриманих результатів випливає, що серед молекулярних механізмів церебропротекторної активності адемолу слід виділити його здатність зменшувати енергодефіцит та покращувати аеробний метаболізм глюкози в клітинах ГМ щурів з ЧМТ.

Аналіз літературних джерел [426] вказує на те, що при ЧМТ реєструється гіперпродукція активних форм кисню тканинами ГМ, що активує розвиток у його структурах процесів оксидативного та нітрозативного стресу білків, ліпідів та нуклеїнових кислот нейронів, порушує афінність та специфічність рецепторів, генерацію потенціалів дії та провідність нервового імпульсу. Тому, поряд із корекцією енергетичного дисбалансу, ліквідацією проявів метаболічного ацидозу, важливим заходом інтенсивної терапії хворих із ЧМТ є використання

фармакологічних засобів із антиоксидантними властивостями. На сьогодні чітко встановлено, що протекторна дія адемолу на нейрони мозку наприклад при інсульті, що обумовлена притаманними йому антиоксидантними властивостями [393]. Саме тому доцільно було з'ясувати вплив адемолу на перебіг процесів оксидативного стресу при важкій ЧМТ.

Встановлено, що за умов експериментальної ЧМТ в структурах головного мозку щурів реєструється гіперактивація вільнорадикального окиснення ліпідів біомембран. Аналіз застосування досліджуваних фармакологічних засобів показує, що адемола та амантадин в різній мірі стримує активацію процесів перекисного окиснення ліпідів в тканинах мозку. В групі тварин, які отримували адемола, вміст МДА в мозку був меншим на 58,3% ($p < 0,05$), ніж у тварин групи контрольної патології. У тварин, яким застосовували амантадину сульфат вміст МДА в мозку був меншим на 48,4 % ($p < 0,05$), ніж у тварин групи контрольної патології. Тобто, за здатністю стримувати пероксидацію ліпідів амантадин сульфат дещо поступався адемолу.

ЧМТ асоціюється з активацією окисної модифікації протеїнів. Так, застосування адемола та амантадину сульфату в різній мірі стримує активацію процесів окисної деградації білків в тканинах мозку. При цьому, аналіз накопичення карбонільованих протеїнів у щурів при ЧМТ показав дещо кращу ефективність корекції окисної модифікації протеїнів адемолу. В групі тварин, лікованих адемолом, вміст КГП в мозку був меншим на 40,1 % ($p < 0,05$), ніж у тварин групи контрольної патології. У тварин, яким застосовували амантадин вміст КГП в мозку був меншим на 39,1% ($p < 0,05$), ніж у тварин групи контрольної патології.

Гіперактивація перекисного окиснення ліпідів та протеїнів за умов ЧМТ відбувається на тлі зниження швидкості інактивації супероксидного аніон-радикалу. Фармакотерапія адемолом у щурів з ЧМТ попереджувала падіння швидкості реакції дисмутації супероксид-аніон радикалу в мозку тварин з ЧМТ. В

групі щурів, яким використовували адемом та амантадин, активність СОД в мозку перевищувала показник групи контрольної патології на 105% та 101% відповідно.

ЧМТ супроводжується не лише порушенням дисмутації супероксидного аніону в клітинах мозку, а й пригніченням інактивації гідроген пероксиду за участі ферментів ГПО та каталази. Фармакотерапія досліджуваними препаратами стримувала падіння активності антиоксидантних ензимів ГПО та каталази в структурах ГМ. В групі тварин з ЧМТ, лікованих адемом та амантадином сульфату активність ГПО, каталази в тканинах мозку була більшою на 70,9 та 89,5 % відповідно, ніж показники в групі контрольної патології. У тварин, яким вводили амантадин сульфат, активність ГПО та каталази в тканинах мозку виявилась більшою на 44,5 % та 79,0 %, ніж відповідні показники в групі контрольної патології.

Проведений аналіз отриманих результатів показав, що застосування адемому на тлі ЧМТ стримує краще падіння активності ферментативної антиоксидантної ланки, попереджує накопичення активних кисневих інтермедіатів та сповільнює перебіг реакцій вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів в структурах головного мозку щурів, ніж введення амантадину сульфат.

Одним із провідних молекулярних механізмів нейроцитопротекторної дії сучасних фармакологічних препаратів є їх коригувальний вплив на обмін NO, зокрема на розвиток в тканинах ГМ нітрозативного стресу [427, 428, 429]. Тому, доцільним було дослідити вплив адемому на стан системи монооксиду азоту в ГМ щурів при ЧМТ.

Експериментальне моделювання травматичного ураження головного мозку супроводжувалось розвитком в його структурах пертурбацій в системі L-аргінін / NO-синтаза. Так, використання досліджуваних фармакологічних засобів на фоні ЧМТ попереджує виснаження в мозку запасів амінокислоти L-аргініну та гіперактивацію NO-синтази, причому за вказаним ефектом адемом перевищував ефективність амантадину сульфату. В групі тварин з ЧМТ, яким застосовували

адемом вміст L-аргініну в мозку був більшим на 112% ($p < 0,05$), ніж в групі контрольної патології. За цих умов сумарна активність NO-синтази в мозку була меншою на 26,6 % ($p < 0,05$), відносно нелікованих тварин з ЧМТ. При цьому, у тварин, лікованих амантадином, рівень L-аргініну в мозку був більшим на 72,0% ($p < 0,05$), ніж в групі контрольної патології, а сумарна активність NO-синтази в мозку була меншою на 15,4% ($p < 0,05$), відносно нелікованих тварин з ЧМТ.

Аналіз отриманих результатів свідчить, що серед нейроцитопротекторних властивостей адемолу слід виділити його здатність вірогідно краще, ніж амантадину сульфат, попереджувати розвиток нітрозативного стресу та збільшувати запаси амінокислоти L-аргініну в клітинах ГМ за умов ЧМТ.

Виявлення біомаркерів запалення в умовах ЧМТ може стати цінним доповненням до поліпшення якості прогнозування фіналів травми ГМ. Одним із таких маркерів може бути фактор некрозу пухлин альфа (TNF- α), який належить до групи прозапальних цитокінів. TNF- α поряд з інтерлейкінами-1 (альфа і бета) та інтерлейкіном-6 (IL-1 α , IL-1 β та IL-6) продукується макрофагами, тканинними моноцитами, мікрогліальними клітинами, ендотеліоцитами, астроцитами і нейронами мозку, як відповідь на гостру або хронічну ішемію [274, 387]. В експериментальних роботах показано, що високі рівні прозапальних цитокінів TNF- α , IL-1 α , IL-1 β та IL-6 володіють нейротоксичною дією, яка збільшує травматичне пошкодження нервової тканини, викликаючи загибель нервових клітин та гальмуючи нейрогенез [430].

У зв'язку з вищевикладеним, метою наступного етапу дослідження була оцінка рівня TNF- α в тканинах ГМ при моделюванні важкої ЧМТ у щурів, а також його зміни на тлі терапії блокаторами NMDA-рецепторів адемомом та амантадином сульфатом.

Аналіз рівня TNF- α показав, що розвиток ЧМТ супроводжується індукцією запальної реакції в тканинах ГМ. Так, станом на 8 добу після ЧМТ (контрольна група) реєструється вірогідне зростання рівня TNF- α в тканині мозку в 2,7 рази

($p < 0,05$)

Фармакотерапія досліджуваними розчинами в різній мірі зменшувала активність запальної реакції в тканинах травматично пошкодженому ГМ. Так, у тварин, яким застосовували адемом та амантадин сульфат, вміст TNF- α в тканинах мозку виявився меншим відповідно на 57,3 % та 43,5 % ($p < 0,05$). Отже, ефективнішим протизапальним агентом за ЧМТ виявився адемом, активність якого реалізується також через пригнічення розвитку запальної реакції в тканинах ГМ.

Для більш ґрунтовної оцінки величини церебропротекторної дії адемому за умови його інфузійного курсового в/в введення в умовно-ефективній дозі 2 мг/кг на моделі важкої ЧМТ у щурів, доцільним було охарактеризувати інтенсивність перебігу деструктивних змін в мембранах нейронів за динамікою активності нейрон-специфічної енолази (NSE), яка є раннім маркером пошкодження нервової тканини. NSE локалізується переважно в нейронах та нейроендокринних клітинах [162]. При неврологічних захворюваннях, у тому числі при ЧМТ, відмічається вихід нейрон-специфічних ензимів та їх ізоферментів із пошкоджених нейронів, що дозволяє дослідити глибину та інтенсивність структурно-функціональних порушень біомембран у ЦНС на ранніх етапах.

За результатами дослідження ЧМТ у щурів супроводжується розвитком нейродеструктивних змін в головному мозку, так розвиток ЧМТ супроводжувався зростанням вмісту NSE в сироватці крові, що перевищував показник псевдооперованих тварин у 4,95 рази ($p < 0,05$). Застосовані фармакологічні блокатори NMDA-рецепторів з різною ефективністю стримували розвиток нейродеструктивних змін. В групі тварин, які отримували адемом та амантадин сульфат вміст NSE в сироватці крові був на 52,1 та 29,0 % відповідно менший, ніж в групі контрольної патології, так за вказаним ефектом адемом перевищував амантадин сульфат ($p < 0,05$).

Як свідчать літературні дані [162], на відміну від NSE, яка є внутрішньоклітинним ферментом, і підвищення її активності безпосередньо

вказує на пошкодження цілісності мембран нейроцитів, білок S 100 являє собою специфічний пептид астроцитарної глії, а зростання його рівня відображає запальну реакцію в гліальній тканині та вказує на інтенсивний поділ клітин нейроглії та активність нейроапоптозу. Зазначені процеси характеризують етап організації альтераційного осередку та заміщення гліальними клітинами тих нейроцитів, які загинули некротичним шляхом. Розвиток запальної реакції в нервовій тканині є прямим наслідком некрозу нейронів у вогнищі деструкції і фактором, що підтримує вторинне пошкодження клітин та неконтрольовану експансію осередку.

За даними наших досліджень, ЧМТ у щурів викликає інтенсивну нейрогліопрولیферацію та нейроапоптоз. У нелікованих тварин з ЧМТ відмічалось зростання вмісту білка S 100 в сироватці крові, що перевищувало відповідні показники псевдооперованих тварин у 7,5 рази ($p < 0,05$). Аналіз отриманих нами даних у групі ЧМТ + 0,9% розчин NaCl стосовно рівнів NSE та білка S100, як маркерів пошкодження нервової тканини дає змогу зробити висновок про те, що на 8-му добу ЧМТ у щурів групи контролю відбувається інтенсивне формування та організація ядра альтераційного осередку. При цьому, адемом та амантадину сульфат стримували розвиток інтенсивної нейрогліопрولیферації та нейроапоптозу за умов модельної ЧМТ, так у групах тварин, лікованих адемом та амантадином сульфату вміст білка S100 в сироватці крові становив в 2,04 та 1,66 рази відповідно менше ($p < 0,05$), ніж в групі контрольної патології.

Отримані результати свідчать про те, що лікування адемом дозою 2 мг/кг в/в краще від амантадину сульфату (5 мг/кг в/в) на фоні модельної ЧМТ проявляло нейроцитопротекторні властивості, так даний ефект адемолу виявився більш виразним за спроможністю перешкоджати наростанню рівня NSE та підвищенню рівня білка S100, адемом вірогідно переважав референс-препарат (амантадину сульфат) в середньому відповідно на 22,5 та 18,2%.

Наступний крок у нашому дослідженні включав оцінку динаміки зміни

вмісту мозкового нейротрофічного фактору (BDNF) у щурів з ЧМТ без лікування і на тлі фармакотерапії досліджуваними розчинами. За даними літератури BDNF є плейотропним цитокіном, який відіграє важливу роль в регуляції нейрональної активності, синтаптичної пластичності, структурного та функціонального стану глутаматергічних синапсів, процесів навчання та пам'яті та регулює репаративні процеси в мозку [63].

Виявилось, що ЧМТ у щурів має депримуєчий вплив на продукцію вказаного цитокіну, що ймовірно свідчить про зниження репаративних процесів у мозку. У тварин групи контрольної патології вміст цього цитокіну на 47,8 % менший ($p < 0,05$), ніж у псевдооперованих тварин.

Досліджувані розчини стримують формування дефіциту нейротрофічного фактору, причому адемол значно випереджає амантадин сульфат за цим ефектом, так рівень BDNF в сироватці крові за умов лікування ЧМТ адемолем вірогідно більший на 24,1 % ($p < 0,05$), порівняно з такими показниками при лікуванні амантадином сульфатом.

Вирішення питання про те, який вид клітинної смерті переважає при травматичному пошкодженні головного мозку, має важливе практичне значення для розробки нових методів патогенетичної терапії ЧМТ, оскільки відновний потенціал нейронів та нейроглії різко обмежений та втрата навіть деякої частини клітин головного мозку може закінчитись фатально для постраждалого від травматичного пошкодження. Кількість маси некротично та апоптотично загиблих нейронів у загальний об'єм ушкодженої нервової тканини досить різний та залежить від багатьох умов. Враховуючи складність методик та швидку елімінацію апоптотичних клітин, оцінка їх сумарної частки в травматично пошкодженій ділянці головного мозку є непростим завданням, яке можна виконати залучивши протокові-цитометричний аналіз. Метод протокової цитометрії дає змогу верифікувати апоптоз на незворотніх стадіях за маркером встановлення факту фрагментації ядерної ДНК нейронів [380].

Подальше вивчення можливих механізмів захисної дії досліджуваних церебропротекторів на травматично пошкодженій головний мозок показало, що у групі контрольної патології (ЧМТ + 0,9% розчин NaCl) інтенсивність фрагментації ДНК в ядрах нейронів темпоральної кори головного мозку щурів на 8 добу після моделювання ЧМТ вірогідно підвищилася у 3 рази або на 198,2%. Оцінюючи вказане зростання фрагментації ДНК у групі контрольної патології, можна говорити про процес інтенсивного формування посттравматичного вогнища саме за рахунок нейроцитів, які перебувають у стані апоптотичної смерті.

Аналіз спроможності знижувати рівень фрагментованої ДНК в ядрах нейронів часток кори головного мозку щурів на 8-му добу ЧМТ показує, що адемомол вірогідно перевершував референс-препарат в середньому на 27,2% ($8,35 \pm 0,133\%$ проти $11,47 \pm 0,02\%$) ($p < 0,05$). На нашу думку, пригнічення інтенсивності нейроапоптозу в корі травматично пошкодженого головного мозку щурів на тлі Адемолу свідчить про зменшення вогнища нейродеструкції за рахунок збереження числа морфологічно непошкоджених нейроцитів, і є одним із провідних механізмів його церебропротекторної дії при травматичних пошкодженнях головного мозку при його застосуванні умово-ефективною дозою 2 мг/кг.

Результати дослідження показали, що застосування адемолу на тлі ЧМТ патогенетично зменшує виразність нейродеструктивних процесів, знижує активність нейрогліопроліферації та нейроапоптозу, а також стимулює репаративні процеси у головному мозку.

В умовах ЧМТ за рахунок зменшення сталого об'єму черепної коробки, за рахунок зміщення кісткових уламків, або наявності гематом, зростають абсолютні значення внутрішньочерепного тиску (ВЧТ), що супроводжується дестабілізацією у системі ауторегуляції кровообігу і призводить до погіршення кровобігу в інтрацеребральних судинах, які забезпечують трофіку мозку. Окрім цього, порушується аксональний транспорт внаслідок зовнішнього механічного тиску на

кору мозку, з наступним її здавленням. Все це призводить до надмірної активації NMDA-рецепторів та запуску глутамат-кальцієвого патобіохімічного каскаду – основних механізмів апоптотичної та некробіотичної смерті нейронів. Як наслідок формується деструктивно-дегенеративне вогнище, що спричиняє розвиток патологічно зміненого неврологічного статусу хворих. Отже, глутаматна ексайтотоксичність та внутрішньочерпна гіпертензія, являють собою потенційні мішені щодо можливих розробок патогенетичної терапії ішемічних уражень мозку, зокрема тих, що асоційовані із високими значеннями ВЧТ. Спроможність адемоли корегувати підвищені значення ВЧТ, можна пояснити специфічними для нього структурними та рецепторними особливостями. Молекула 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемоли) в своїй будові містить адамантанове ядро подібно до амантадину, а з іншого боку має структурну подібність до кардіонеселективних β -адреноблокаторів пропранололу та тімололу, за рахунок пропанамінового фармакофору, характерного для всіх β -адреноблокаторів із феноксипропаноламіною будовою. Блокада β -адренорецепторів судинних сплетень шлуночків м'якої мозкової оболонки призводить до зниження ВЧТ за рахунок зменшення продукції ліквору. Наявність лікворогіпотензивного ефекту адемоли ми пов'язуємо саме з β -адреноблокувальними властивостями. Підґрунтя цього твердження доповнюється також тим фактом, що адемола має певні структурні тотожності з пропранололом [13]. Причому ця дія реалізується не тільки за рахунок можливої блокади β -адренорецепторів, а й внаслідок активуючого впливу β -адреноблокаторів на функціонування 5-гідрокситриптамінових рецепторів (5-ГТ) венул синусів мозкової оболонки [402]. Цей механізм лежить в основі покращення ліквородинаміки по ліквороносним шляхам, резорбції спинномозкової рідини, нормалізації балансу між продукцією та зворотнім всмоктуванням ліквору та відтоком крові через синуси у яремні вени, що сприяє зниженню ВЧТ. Враховуючи вищенаведені факти, доцільно зробити припущення,

що лікворогіпотензивна дія адемолу, як і у β -адреноблокаторів також може бути пов'язана із його впливом на 5-ГТ рецептори венул мозку, що потребує подальших досліджень.

Метою наступного етапу дослідження, було виявити здатність адемолу блокувати β -адренорецептори, а також за критеріями лікоподібності та біодоступності оцінити можливість його проходження через ГЕБ порівняно із еталонними β -адреноблокаторами (структурними аналогами за пропанаміновим фармакофором).

Використовуючи комплекс методів хемоінформатики, зокрема, метод «*BOILED-Egg*» встановлено, що адемомол препарат із високою біодоступністю, яка забезпечує можливість внутрішньовенного введення. Адемомол гарно проникає крізь ГЕБ, що пов'язано із задовільною лікоподібністю. Проникність адемолу через ГЕБ є запорукою його нейропротекторної активності, а структурна подібність до β -адреноблокаторів та його афінність обумовлює лікворогіпотензивну дію похідного адамантану, що спричиняє зниження підвищеного ВЧТ.

Методом молекулярного докінгу *in silico* на клонованому β_1 -адренорецепторі *Meleagris gallopavo*, встановлена здатність адемолу до блокування β -адренорецепторів. За залежністю лікворогіпотензивної активності та спорідненості до β_1 -адренорецепторів (E_{doc} , kkal/mol) адемомол займає проміжне місце між пропранололом та тімололом, причому, обидва останніх знижують підвищений ВЧТ.

Побудовано модель кореляції афінитету від ліпофільності для ряду відомих β -адреноблокаторів та передбачено афінність адемолу, яка наближається до високоафінних неселективних β -адреноблокаторів, згідно з цими даними за збільшенням афінності до β -адренорецепторів адемомол можна розташувати наступним чином: тімолол < адемомол < левобуналол < альпреналол.

Метаболізм адемолу може відбуватись, як за рахунок бічного ланцюга із утворенням його метаболіту адамантіл-1-іл-оцтової кислоти і 2-адамантантіл-1-

етанолу, що екскретуються із сечею, так і внаслідок зв'язування адемолу із альбумінами плазми, що забезпечує альтернативний шлях метаболізму, який відбувається повільно в печінці завдяки наявності інертного адамантанового радикалу.

Введення NH_2 -аміногрупи, залишків гліцину або глутамінової кислоти до каркасу молекули адемолу, буде сприяти посиленню його афінності, що підсилить нейропротекторну активність через більш повну та фізіологічну блокаду NMDA-рецепторів. Адемол представляє собою перспективний нейропротекторний засіб, який можливо використовувати при ураженні головного мозку, яке асоційовано із підвищеним ВЧТ.

Дослідження морфологічних змін в структурах головного мозку щурів на тлі курсової терапії ЧМТ досліджуваними розчинами проводилось шляхом вилучення матеріалу для дослідження (головного мозку щура) на 8 – му добу експерименту.

Вивчення гістологічних зрізів сенсомоторної зони великих півкуль ГМ псевдооперованих тварин групи контролю показало, що їхня гістологічна структура відповідала нормі.

Таким чином, при морфологічному дослідженні сенсомоторної ділянки кори великих півкуль та ділянки Ca1 гіпокампу головного мозку псевдооперованих щурів на мікропрепаратах чітко візуалізувались основні структурні компоненти нейронів (ядро, ядерце, дендрити та аксони), кровоносні капіляри та нейропіль. у щурів контрольної групи у частині нейронів сенсомоторної ділянки кори великих півкуль визначався тигроліз нейроплазми. Базофільна речовина конденсувалася у дрібні грудочки, що обумовлювало просвітлення нейроплазми, таким чином, нейроцити ставали гіпохромними, збільшувались у розмірах, набували округлої форми, дендрити та аксони витончувались, ставали малопомітними, зменшувалась кількість нормальних полігональної форми нейронів. За результатами проведених гістологічних досліджень встановлено, що при моделюванні ЧМТ в сенсомоторній зоні та полях гіпокампа CA1 піддослідних тварин на першому плані постають

значні порушення гемодинаміки. Порушення мікрогемоциркуляції полягали в тому, що просвіти більшості капілярів були дилатовані та різко повнокровні, з еритростазами в судинах. Характерним було збільшення периваскулярних просторів. Ендотеліоцити судин мікроциркуляторного русла були набряклі, дистрофічно змінені.

На 8 – му добу моделювання ЧМТ у щурів, які щоденно отримували інфузію розчину амантадину сульфату, патоморфологічні зміни в структурах сенсомоторної кори та зоні СА1 гіпокампа головного мозку, порівняно з нелікованими тваринами, були виражені менш інтенсивно. Так, переважна кількість нейроцитів досліджуваних структур була нормохромною, мала чітко оконтуровані ядра, які містили одне, або два ядерця. Структура нейроцитів була візуально подібна до морфологічної картини псевдооперованих щурів.

На 8 – му добу моделювання ЧМТ у щурів, які щоденно отримували інфузію препарату Адемол, патоморфологічні зміни в структурах сенсомоторної кори та зоні СА1 гіпокампа головного мозку, порівняно з лікованими тваринами, лікованими амантадином сульфатом, були виражені ще менш інтенсивно. Так, майже всі нейроцити досліджуваних структур були нормохромними, мали чітко оконтуровані ядра, які містили одне, або два ядерця. Структура нейроцитів була візуально подібна до морфологічної картини псевдооперованих щурів.

У процесі експерименту досліджені морфометричні показники ураженої тканини сенсомоторної ділянки кори великих півкуль та ділянки СА1 гіпокампу головного мозку щурів різних груп, такі як: відносна площа перицелюлярного та периваскулярного набряку, відносна площа судин мікроциркуляторного русла, діаметр судин мікроциркуляторного русла, кількість функціонуючих капілярів в 1 мм², кількість дегенеративно змінених нейроцитів та процентне співвідношення дегенеративно змінених та нормальних нейроцитів. Дані отримані з аналізу морфометричних показників ураженої тканини сенсомоторної ділянки кори великих півкуль та ділянки СА1 гіпокампу головного мозку групи щурів

ЧМТ+адемола вказують на достовірну перевагу лікувального ефекту адемола над контрольною групою щурів і на кращий ефект впливу адемола на збереження морфологічної структури головного мозку в порівнянні із групою щурів з ЧМТ+амантадин сульфат на 8 добу спостереження.

Отже, проведені гістологічні дослідження сенсомоторної ділянки кори головного мозку та гіпокампа зони СА1 щурів з модельованою ЧМТ свідчать про ефективність використання амантадину сульфату та Адемола та сприяють зниженню рівня дистрофічно – некротичних змін та значно активують регенераторні процеси.

Порівняно з іншими клітинними елементами мозку, які неминуче страждають від порушень мозкового кровообігу внаслідок ЧМТ, нейрони гіпокампа у зубчастій звивині в полі СА1 виявляють особливу вразливість. Стійкішими виявляються нейрони III, V і VI шарів сенсомоторної зони кори великих півкуль на фоні інфузії адемола.

Вивчені та обґрунтовані ключові захисні шляхи патогенетичної дії 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемола) на травматично-пошкоджений головний мозок при ЧМТ представлені комплексом наведених механізмів на рис. 1. Окремі ланки та складові церебропротекторної дії досліджуваної сполуки в умовах експериментально-змодельованої тяжкої ЧМТ інтегровано та представлено нижче:

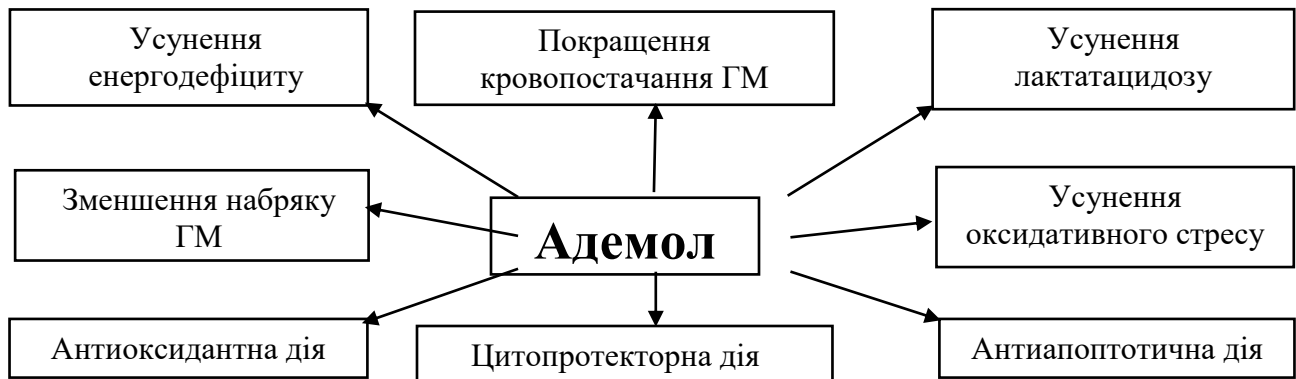


Рис. 9.2. Ключові патогенетичні механізми впливу 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемола) на головний мозок при ЧМТ.

Таким чином, зважаючи на всі з'ясовані можливі механізми церебропротекторної дії досліджуваного фармакологічного засобу 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) на головний мозок при важкій ЧМТ нейропротекторний поліфункціональний ефект даного засобу за механізмами захисного впливу на ГМ можна віднести до первинних при травматичному пошкодженні ГМ.

Отже, на підставі всіх з'ясованих можливих механізмів церебропротекторної дії 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (адемомол) можна віднести до первинних церебропротекторів, що робить даний фармакологічний засіб перспективним для патогенетично раннього обґрунтованого лікування ЧМТ. Так, подальше використання адемолу в клінічній практиці можливо дасть вирішити проблему щодо зниження летальності та інвалідизації після ЧМТ, що на сьогодні є неможливим використовуючи існуючі первинні церебропротектори.

Беручи до уваги все вищезазначене, перспективним може бути й подальше дослідження інших фармакологічних властивостей адемолу в клінічній практиці.

Інтраназальні лікарські форми, в практичній медицині та фармації, протягом тривалого періоду застосовувались, як засоби місцевої терапії різноманітних захворювань. Останнім часом проводяться дослідження, щодо створення назальних форм, які можуть використовуватись для транспортування активних сполук системної дії. Нині розроблені назальні форми з наркотичними та ненаркотичними анальгетиками, гормональними препаратами, вакцинами, препаратами серцево-судинної дії. Особливо перспективним є використання назального шляху, завдяки анатомічним особливостям носової порожнини, для транспортування активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) безпосередньо до головного мозку [115].

Термогравіметричні дослідження, в розробці нових лікарських форм, застосовуються задля характеристики термічних профілів інгредієнтів рецептури, окреслення раціонального температурного режиму виготовлення лікарської форми

з метою попередження руйнування діючих та допоміжних речовин, а також виявлення можливої взаємодії інгредієнтів рецептури між собою під час нагрівання [274].

Експериментальними та дериватографічними методами вивчено сумісність діючих та допоміжних інгредієнтів назальної лікарської форми. Встановлено, що компоненти дослідної форми сумісні між собою та можуть бути поєднані в одній рецептурі. Досліджено консистентні властивості назальної форми з адемолом. Опрацьовано екстемпоральну технологію виготовлення назальної форми з адемолом, яка матиме практичне значення для аптечних закладів з ліцензією на екстемпоральне виготовлення нестерильних лікарських засобів.

Наведені дані нашого дослідження дають підставу стверджувати, що при проведенні стратегії вибору первинних церебропротекторів при важкій ЧМТ повинна віддаватись перевага церебропротекторам з поліфункціональними властивостями, комплекс ефектів яких добре співставляється із патогенезом травматичного пошкодження ГМ.

Таким чином, 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (адемолом) є перспективним органопротектором із політропними властивостями блокатора N-метил-D-аспартатних (NMDA) рецепторів, захисні механізми якого пов'язані з усуненням енергодефіциту та метаболічного ацидозу, зменшенням набряку ГМ та нейродеструкції, корекцією антиоксидантно-оксидантної системи, зменшенням апоптозу, нормалізуючим впливом на обмін монооксиду азоту, збереженням цитоархітекtonіки ГМ, що обґрунтовує його подальшу можливість застосування в клінічних умовах гострого періоду черепно-мозкової травми в якості первинного церебропротекторного агента за рахунок фізіологічної та патогенетичної співставимості до вказаної нозології.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення і нове вирішення однієї з актуальних проблем при ЧМТ – забезпечення первинної церебропротекції зі швидким відновленням мнестичних функцій головного мозку. Шляхом комплексної оцінки та співставлення результатів біохімічних, морфологічних результатів дослідження доведений позитивний вплив 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду на процеси неврологічного дефіциту, мозкового кровообігу, оксидантно-антиоксидантної системи. Опрацьовано екстемпоральну технологію виготовлення назальної форми з адемолом, яка матиме практичне значення для аптечних закладів з ліцензією на екстемпоральне виготовлення нестерильних лікарських засобів.

1. Проведена розробка та стандартизації нової моделі черепно-мозкової травми різного ступеня важкості для скринінгу лікувальних властивостей різних фармакологічних засобів у щурів, яка була викликана пострілом з пневматичного пістолету до трепанаційного отвору з відстані 0 см; 0,5 см та 1 см, щоза динамікою показника летальності, рівнем маркера ушкодження головного мозку нейронспецифічної енолази та наявного неврологічного дефіциту за шкалою stroke-index С.Р. McGraw достовірно відповідає класифікації ступеня важкості ЧМТ від важкого до легкого в залежності від відстані пострілу, відповідно від 0 см (впритул) до 1 см ($p < 0,05$).

2. Проведений експериментальний скринінг ефективності різних доз введення 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (Адемолу) на моделі важкої черепно-мозкової травми у щурів показав, що максимально достовірна терапевтична дія отримана від застосування розчину адемолу у дозі 2 мг/кг 2 р/д (через кожні 12 год) впродовж 8-ми діб, яку можна вважати умовно-ефективною в умовах даного патологічного стану за показником летальності ($p < 0,05$). Міжгрупове порівняння на 8 добу спостереження ефективності лікування

за показником летальності тварин із тяжкою ЧМТ свідчить, що адемомол вірогідно переважав аналогічний ефект групи контролю та обох референт-препаратів в максимально їх ефективних церебропротекторних дозах за показником летальності відповідно: амантадину сульфату (5 мг/кг) і магнію сульфату (250 мг/кг) перевершуючи їх ефективність в середньому на 33% та 83% ($p < 0,05$).

3. Аналіз застосування адемомолу на 8 добу тяжкої ЧМТ показав кращий фармакологічний ефект, щодо зменшення неврологічного дефіциту та достовірну перевагу над ефектом амантадину сульфату на 17% та магнію сульфату на 30%. Результати летальності та неврологічного дефіциту у щурів з тяжкою ЧМТ на фоні застосування референт-препаратів вказують на відсутність достовірної ефективності застосування магнію сульфату при експериментальній ЧМТ у щурів, тому, для подальших експериментальних досліджень було залишено лише один препарат порівняння – амантадину сульфат.

4. Курсова лікувальна терапія щурів із ЧМТ тяжкого ступеня фармакологічним засобом адемомол, вірогідно краще амантадину сульфату сприяла підтриманню мозкового кровотоку на рівні максимально наближеному до вихідного, а також вірогідно перешкоджала падінню основних показників центральної гемодинаміки (артеріального тиску та центрального венозного тиску), при цьому ефективність адемомолу за показником об'ємної швидкості мозкового кровообігу краща в порівнянні з групою контролю та амантадину сульфату відповідно на: 76,2 та 34,8% ($p < 0,05$).

5. Аналіз отриманих даних по енергетичному обміну у щурів із тяжкою ЧМТ, які отримували розчин адемомолу в дозі (2 мг/кг в/в) більш ефективно, ніж застосування амантадину сульфату (5 мг/кг в/в), стримувало гіперактивацію анаеробного гліколізу, стимулювало процеси тканинного дихання, зменшувало ознаки лактат-ацидозу, розвиток вторинної альтерації клітин головного мозку недоокисненими продуктами, коригувало краще падіння активності ферментативної антиоксидантної ланки, попереджувало накопичення активних

кисневих інтермедіатів та сповільнювало перебіг реакцій вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів в структурах головного мозку щурів ($p < 0,05$).

6. Аналіз впливу курсового введення адемолу на формування стероїдної нейротоксичності за рівнем кортизолу в умовах модельної ЧМТ показав, що застосована фармакотерапія попереджувала наростання рівня кортизолу, так у щурів, які отримували адемомол рівень кортизолу в крові був меншим в 2,58 рази ($p < 0,05$), порівняно з групою контролю. При цьому, вплив амантадину сульфату на рівень кортизолу в крові був вірогідно меншим, ніж у адемолу і на 49,2% ($p < 0,05$) перевищував відповідний показник у щурів з ЧМТ+адемомол.

7. Фармакотерапія досліджуваними розчинами в різній мірі зменшувала активність запальної реакції в тканинах травматично пошкодженому мозку. Так, у тварин, яким застосовували адемомол та амантадин сульфат, вміст TNF- α в тканинах мозку виявився меншим відповідно на 57,3 % та 43,5 % ($p < 0,05$). При цьому, адемомол вірогідно краще, ніж амантадину сульфат та група контролю, попереджував розвиток нітрозативного стресу та збільшував запаси амінокислоти L-аргініну в клітинах головного мозку за умов ЧМТ.

8. Аналіз отриманих даних у групі контролю (ЧМТ + 0,9% розчин NaCl) стосовно рівнів NSE та білка S100, як маркерів пошкодження нервової тканини свідчить про те, що на 8-му добу ЧМТ у щурів групи контролю відбувається інтенсивне формування та організація ядра альтераційного осередку. Адемомол та амантадину сульфат стримують розвиток інтенсивної нейрогліопрولیферації. У групах тварин, лікованих адемомолом та амантадином сульфату відповідно: вміст NSE був менший на 52,1 та 29,0 %, а вміст білка S100 був менше в 2,04 та 1,66 рази, ніж в групі контрольної патології ($p < 0,05$).

9. Тяжка ЧМТ у щурів має депримуєчий вплив на продукцію мозкового нейротрофічного фактору. Досліджувані розчини стримують формування дефіциту нейротрофічного фактору, причому адемомол значно випереджає амантадин сульфат за цим ефектом, так рівень BDNF в сироватці крові за умов

лікування ЧМТ адемолом вірогідно більший на 24,1 % ($p < 0,05$), порівняно з такими показниками при лікуванні амантадином сульфатом.

10. Аналіз спроможності знижувати рівень фрагментованої ДНК в ядрах нейронів часток кори головного мозку щурів на 8-му добу ЧМТ показує, що адемолом вірогідно перевершував референс-препарат в середньому на 27,2% ($8,35 \pm 0,133\%$ проти $11,47 \pm 0,02\%$) ($p < 0,05$).

11. Встановлено, що адемолом препарат із високою біодоступністю, яка забезпечує можливість внутрішньовенного введення. Адемолом в достатній мірі проникає крізь гематоенцефалічний бар'єр, що є запорукою його нейропротекторної активності, а структурна подібність до β -адреноблокаторів та його афінність обумовлює лікворогіпотензивну дію похідного адамантану, що спричиняє зниження підвищеного внутрішньочерепного тиску ($p < 0,05$).

12. Експериментальними *in silico* та дериватографічними методами встановлено, що компоненти дослідної форми сумісні між собою та можуть бути поєднані в одній рецептурі. Досліджено консистентні властивості назальної форми з адемолом. Реологічні властивості характеризують рідку консистенцію, тому в якості упаковки доцільно використати флакон з піпеткою (назальною насадкою), одноразову крапельницю, пропелентну або безпропелентну упаковку.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Jha S, Read S, Hurd P, Crespi B. Segregating polymorphism in the NMDA receptor gene GRIN2A, schizotypy, and mental rotation among healthy individuals. *Neuropsychologia*. 2018; 117:347-351. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2018.06.021
2. Жабоедова НВ, Загорій ГВ, Ходаківський ОА. Скринінг церебропротекторних властивостей промислового зразка ампульного розчину 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду ("Адемол") на моделях гострого порушення мозкового кровообігу за геморагічним типом. *Вісник морфології*. 2016; 1: 71-77.
3. Aiyer R, Gulati A, Gungor S, Bhatia A, Mehta N. Treatment of Chronic Pain With Various Buprenorphine Formulations: A Systematic Review of Clinical Studies. *Anesth Analg*. 2018 Aug;127(2):529-538. doi: 10.1213/ANE.0000000000002718. PMID: 29239947
4. Рекомендации Европейской организации по борьбе с инсультом (ESO)/ <https://eso-stroke.org/guidelines/eso-guideline-directory/#acute-stroke>
5. Shih RY, Burns J, Ajam AA, Broder JS, Chakraborty S, Kendi AT, Lacy ME, Ledbetter LN, Lee RK, Liebeskind DS, Pollock JM, Prall JA, Ptak T, Raksin PB, Shaines MD, Tsiouris AJ, Utukuri PS, Wang LL, Corey AS. ACR Appropriateness Criteria® Head Trauma: 2021 Update. *J Am Coll Radiol*. 2021;18(5S):S13-S36. doi: 10.1016/j.jacr.2021.01.006.
6. Dávalos A, Alvarez-Sabín J, Castillo J. et al. for the International Citicoline Trial on acUte Stroke (ICTUS) trial investigators. Citicoline in the treatment of acute ischaemic stroke: an international, randomised, multicentre, placebo-controlled study (ICTUS trial). *Lancet*. 2012. [Online first].
7. Ownbey MR, Timothy BP Acute Mild Traumatic Brain Injury Assessment and Management in the Austere Setting -A Review. *Military medicine*. 2022.187.1-2: 47-51.

8. Waldman A, Tadi P, Khan MZS, Rawal AR. Stroke Center Certification. 2023. StatPearls [Internet].
9. Bussolin L, Falconi M, Leo MC, Parri N, De Masi S, Rosati A, et al.; Guideline Working Group. The management of pediatric severe traumatic brain injury: Italian Guidelines. *Minerva Anesthesiol.* 2021;87:567-79. DOI: 10.23736/S0375-9393.20.14122-1
10. Mishra SK, Hida M, Rai S. Memantine and Ibuprofen pretreatment exerts anti-inflammatory effect against streptozotocin-induced astroglial inflammation via modulation of NMDA receptor-associated downstream calcium ion signaling. *Inflammopharmacol.* 2021.29, 183–192. <https://doi.org/10.1007/s10787-020-00760-0>
11. Aiyer R, Neel M, Semih G, Amitabh G. A Systematic Review of NMDA Receptor Antagonists for Treatment of Neuropathic Pain in Clinical Practice. *The Clinical Journal of Pain.* 2018.34(5): 450-467. DOI: 10.1097/AJP.0000000000000547
12. Widzowski D, Palmer G. Low affinity use-dependent NMDA receptor antagonists show promise for clinical development. *Amino Acids.* 2021.19, 151–155. <https://doi.org/10.1007/s007260070043>
13. Степанюк ГІ, Мороз ВМ, Ходаківський ОА, Волощук НІ та ін. Адемол: новий підхід до церебропротекції (монографія). Вінниця: ТОВ «Нілан-ЛТД», 2018: 220.
14. Wu QJ, Tymianski M. Targeting NMDA receptors in stroke: new hope in neuroprotection. *Mol Brain.* 2018; 11(1): 15-18. <https://doi.org/10.1186/s13041-018-0357-8>
15. Wang H, Cao H, Zhang X, Ge L, Bie L. The effect of hypertonic saline and mannitol on coagulation in moderate traumatic brain injury patients. *Am J Emerg Med.* 2017; 35(10): 1404-1407. doi: 10.1016/j.ajem.2017.04.020
16. Wang HC, Lin YJ, Shih FY, Chang H-W, Su Y-J, Cheng B-C, et al. The Role of Serial Oxidative Stress Levels in Acute Traumatic Brain Injury and as Predictors of Outcome. *World Neurosurg.* 2016;87: 463-470. doi: 10.1016/j.wneu.2015.10.010

17. Wang J, Ma MW, Dhandapani KM, Brann DW. Regulatory role of NADPH oxidase 2 in the polarization dynamics and neurotoxicity of microglia/macrophages after traumatic brain injury. *Free Radic Biol Med.* 2017; 113: 119-131.doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.09.017
18. Wang KK, Yang Z, Zhu T, Shi Y, Rubenstein R, Tyndall JA, et al. An update on diagnostic and prognostic biomarkers for traumatic brain injury. *Expert Rev Mol Diagn.* 2018; 18(2): 165-180.doi: 10.1080/14737159.2018.1428089
19. Wang S, Liao L, Wang M, Zhou H. Pin1 Promotes Regulated Necrosis Induced by Glutamate in Rat Retinal Neurons via CAST/Calpain2 Pathway. *Front Cell Neurosci.* 2018; 11: 420-425. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00425>
20. Wang X, Chen J, Wang H, Yu H, Wang C, You J, et al. Memantine Can Reduce Ethanol-Induced Caspase-3 Activity and Apoptosis in H4 Cells by Decreasing Intracellular Calcium. *J Mol Neurosci.* 2017; 62(3-4): 402-411.doi: 10.1007/s12031-017-0948-3
21. Wang Y, Neumann M, Hansen K, Hong SM, Kim S, Noble-Haeusslein LJ, et al. Fluoxetine increases hippocampal neurogenesis and induces epigenetic factors but does not improve functional recovery after traumatic brain injury. *J. Neurotrauma.* 2011; 2: 259-268.doi: 10.1089/neu.2010.1648
22. Warach S, Kaufman D, Chiu D, Devlin T, Luby M, Rashid A, et al. Effect of the Glycine Antagonist Gavestinel on cerebral infarcts in acute stroke patients, a randomized placebo-controlled trial: The GAIN MRI Substudy. *Cerebrovasc Dis.* 2006; 21(1-2): 106-111. doi: 10.1159/000090208
23. Weissenberger CA, Sirén AL. Experimental traumatic brain injury. *Exp Transl Stroke Med.* 2010; 2: 2-16. <https://doi.org/10.1186/2040-7378-2-16>
24. Werner C, Engelhard K. Pathophysiology of traumatic brain injury. *Br J Anaesth.* 2007; 99(1): 4-9.doi: 10.1093/bja/aem131
25. Wijayatilake DS, Talati C, Panchatsharam S. The monitoring and management of severe traumatic brain injury in the united kingdom: is there a

consensus? A national survey. *J Neurosurg Anesthesiol.* 2015; 27(3): 241-245.doi: 10.1097/ANA.0000000000000143

26. Will B, Galani R, Kelche C, Rosenzweig MR. Recovery from brain injury in animals: relative efficacy of environmental enrichment, physical exercise or formal training (1990-2002). *Progress in Neurobiology.* 2004; 72(3): 167-182.doi: 10.1016/j.pneurobio.2004.03.001

27. Wnuk A, Kajta M. Focus on traumatic brain injury. Steroid and Xenobiotic Receptor Signalling in Apoptosis and Autophagy of the Nervous System. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(11): 101-108.doi: 10.3390/ijms18112394

28. Xiong Y, Mahmood A, Chopp M. Animal models of traumatic brain injury. *Nat Rev Neurosci.* 2013; 14(2): 128-142.doi: 10.1038/nrn3407

29. Xue Z, Song Z, Wan Y, Wang K, Mo L, Wang Y. Calcium-sensing receptor antagonist NPS2390 attenuates neuronal apoptosis through intrinsic pathway following traumatic brain injury in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017; 486(2):589-594.doi: 10.1016/j.bbrc.2017.03.097

30. Yakovlev AV, Kurmasheva ED, Ishchenko Y, Giniatullin R, Sitdikova GF. et al. Age-Dependent, Subunit Specific Action of Hydrogen Sulfide on GluN1/2A and GluN1/2B NMDA Receptors. *Front Cell Neurosci* 2017; 11: 375-376.<https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00375>

31. Yalniz-Akkaya Z, Fidanci V, Kilinc A, Burcu A, Uney GO, Ornek F. The effect of systemic amantadine sulfate on malondialdehyde and total thiol levels in rat corneas. *J Ophthalmic Vis Res.* 2014; 9(3): 339-342.doi: 10.4103/2008-322X.143373

32. Shen Q, Hiebert JB, Hartwell J, Thimmesch AR, Pierce JD. Systematic Review of Traumatic Brain Injury and the Impact of Antioxidant Therapy on Clinical Outcomes. *Worldviews Evid Based Nurs.* 2016; 13(5): 380-389.doi: 10.1111/wvn.12167

33. Yan K, Pang L, Gao H, Zhang H, Zhen Y, Ruan S, et al. The Influence of Sedation Level Guided by Bispectral Index on Therapeutic Effects for Patients with Severe Traumatic Brain Injury. *World Neurosurg.* 2018; 110: 671-683.doi:

10.1016/j.wneu.2017.11.079

34. Galgano M, Toshkezi G, Qiu X, Russell T, Chin L, Zhao L-R. Traumatic Brain Injury: Current Treatment Strategies and Future Endeavors. *Cell Transplant*. 2017; 26(7):1118-1130. doi: 10.1177/0963689717714102

35. Talving P, Karamanos E, Teixeira PG, Skiada D, Lam L, Belzberg H, et al. Intracranial pressure monitoring in severe head injury: compliance with Brain Trauma Foundation guidelines and effect on outcomes: a prospective study. *J Neurosurg*. 2013; 119(5): 1248-1254. doi: 10.3171/2013.7.JNS122255

36. Taylor AN, Tio DL, Paydar A, Sutton RL. Sex Differences in Thermal, Stress, and Inflammatory Responses to Minocycline Administration in Rats with Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma*. 2018; 35(4): 60-638. doi: 10.1089/neu.2017.5238

37. Лапшин ВН, Шах БН, Теплов ВМ, Смирнов ДБ. Регионарная вазоактивная и метаболическая терапия пострадавших с тяжелыми черепно-мозговыми травмами. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 2012; 3: 53-56.

38. Ходаковский АА, Павлов СВ, Бухтиярова НВ. Изучение апоптозмодулирующих свойств адемола в условиях модельного нарушения мозгового кровообращения по его влиянию на экспрессию генов раннего реагирования. *Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация*. 2013; 11(154): 155-159.

39. Melo LL, Santos P, Medeiros P, Mello RO, Ferrari EAM, Brandão ML, et al. Glutamatergic neurotransmission mediated by NMDA receptors in the inferior colliculus can modulate haloperidol-induced catalepsy. *Brain Res*. 2010; 1349: 41-47. doi: 10.1016/j.brainres.2010.06.020

40. Реброва ОЮ. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA.М.: МедиаСфера; 2006. 312 с.

41. Gruenbaum SE, Zlotnik A, Gruenbaum BF, Hersey D, Bilotta F.

Pharmacologic Neuroprotection for Functional Outcomes after Traumatic Brain Injury: A Systematic Review of the Clinical Literature. *CNS Drugs*. 2016; 30(9): 791-806.doi: 10.1007/s40263-016-0355-2

42. Labiche LA, Grotta JC. Clinical trials for cytoprotection in stroke. *NeuroRx*. 2004; 1: 46-70.<https://doi.org/10.1602/neurorx.1.1.46>

43. Letson HL, Dobson GP. Adenosine, Lidocaine and Mg²⁺ (ALM) resuscitation fluid protects against experimental traumatic brain injury. *J Trauma Acute Care Surg*. 2018; 84(6):908-916.doi: 10.1097/TA.0000000000001874

44. El Sayed I, Zaki A, Fayed AM, ShehataGM, AbdelmonemS. A meta-analysis of the effect of different neuroprotective drugs in management of patients with traumatic brain injury. *Neurosurg Rev*. 2018; 41(2): 427-438.doi: 10.1007/s10143-016-0775-y

45. Albert-Weissenberger C, Sirén A. Experimental traumatic brain injury. *Exp Transl Stroke Med*. 2010; 2(1): 10-16.doi: 10.1186/2040-7378-2-16

46. Geeraerts T, Velly L, Abdenmour L, Asehnoune K, Audibert G, Bouzat P, et al. Management of severe traumatic brain injury (first 24hours). *Anaesth Crit Care Pain Med*. 2018; 37(2):171-186. doi: 10.1016/j.accpm.2017.12.001

47. Schwarzmaier SM, Terpolilli NA, Dienel A, Gallozzi M, Schinzel R, Tegtmeyer F, et al. Endothelial nitric oxide synthase mediates arteriolar vasodilatation after traumatic brain injury in mice. *J Neurotrauma*. 2015; 32(10): 731-738.doi: 10.1089/neu.2014.3650

48. von Leden RE, Yauger YJ, Khayrullina G, Byrnes KR. Central Nervous System Injury and Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase: Oxidative Stress and Therapeutic Targets. *J Neurotrauma*. 2017;34(4): 755-764.doi: 10.1089/neu.2016.4486

49. Titus DJ, Furones C, Kang Y, Atkins CM. Age-dependent alterations in cAMP signaling contribute to synaptic plasticity deficits following traumatic brain injury. *Neuroscience*. 2013; 231: 182-194.doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.12.002

50. Короткий ЮВ, Ходаківський ОА, Степанюк ГІ, Черноіван НГ, Лозинський МО, Смертенко ОА, винахідники; Інститут органічної хімії НАН України, патентовласник. Застосування 1-(1-адамантил-1-алкокси)-3-аміно-2-пропранололів, як засобів, які мають кардіопротекторну активність. Патент на корисну модель України №59354, МПК (2011.01) C07D 295/084 (2006.01). 2011 Трав 10.

51. Holmes MC, Seckl JR. The role of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases in the brain. *Molecular and cellular endocrinology*. 2006; 248(1-2): 9-14.doi: 10.1016/j.mce.2005.12.002

52. Prius-Mengual J, Pérez-Rodríguez M, Andrade-Talavera Y, Rodríguez-Moreno A. NMDA Receptors Containing GluN2B/2C/2D Subunits Mediate an Increase in Glutamate Release at Hippocampal CA3-CA1 Synapses. *Mol Neurobiol*. 2019;56(3):1694-1706.doi: 10.1007/s12035-018-1187-5

53. Steube D, Gortelmeyer R. The influence of amantadine sulfate on disturbances of arousal after severe traumatic brain injury. *Neurology*. 2000; 6(6): 307-312.

54. Smith C. Neurotrauma. *Handb Clin Neurol*. 2017; 145: 115-132.doi: 10.1016/B978-0-12-802395-2.00008-0

55. Nyanzu M, Siaw-Debrah F, Ni H, Xu Z, Wang H, Lin X, et al. Improving on Laboratory Traumatic Brain Injury Models to Achieve Better Results. *Int J Med Sci*. 2017; 14(5): 494-505.doi: 10.7150/ijms.18075

56. Tsai VW, Scott H., Lewis RJ, Dodd PR. The role of group I metabotropic glutamate receptors in neuronal excitotoxicity in Alzheimer's disease. *Neurotox. Res*. 2005; 7(1-2): 124-141.doi: 10.1007/BF03033782

57. Kumamoto T, Nakajima M, Uga R, Ihayazaka N, Kashihara H, Katakawa K, et al. Design, synthesis, and evaluation of polyamine-memantine hybrids as NMDA channel blockers. *Bioorg Med Chem*. 2018;26(3): 603-608.doi: 10.1016/j.bmc.2017.12.021

58. Semenenko S, Semenenko I, Burlaka B, Samura I, Bukhtiyarova N, Ryzhenko V, Khromylova O. Evaluation of the Cerebroprotective Properties of Ademol-gel in the Analysis of Specific Indicators in the Open Field Test. *Biomed Pharmacol J.* 2023; 16(2): 1219-1227. <https://dx.doi.org/10.13005/bpj/2702>

59. Pandya U, Polite N, Wood T, Lieber M. Increased total serum random cortisol levels predict mortality in critically ill trauma patients. *Am Surg.* 2014; 80(11): 1112-1118. DOI:10.1177/000313481408001126

60. Костюк ВА, Потапович АИ, Ковалева ЖВ. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина. *Вопр. мед. химии.* 1990; 2: 88-91.

61. Guerriero RM, Giza CC, Rotenberg A. Glutamate and GABA Imbalance Following Traumatic Brain Injury. *Current Neurology and Neuroscience Reports.* 2015;15(5): 20-27. doi: 10.1007/s11910-015-0545-1

62. Mannix R, Berkner J, Mei Z, Alcon S, Hashim J, Robinson S, et al. Adolescent Mice Demonstrate a Distinct Pattern of Injury after Repetitive Mild Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma.* 2017; 34(2): 495-504.

63. Semenenko S, Semenenko A, Malik S, Semenenko N, Malik L. Evaluation of the effect of ademol on the dynamics of neuron-specific enolase in traumatic brain injury in rats. *Georgian Medical News.* 2020; 5: 123–126.

64. Владимиров ЮБ, Арчаков АИ. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука; 1972. 252 с.

65. Cai SX. Glycine/NMDA receptor antagonists as potential CNS therapeutic agents: ACEA-1021 and related compounds. *Curr Top Med Chem.* 2006; 6(7): 651-662. doi: 10.2174/156802606776894465

66. Regan MC, Grant T, McDaniel MJ, Karakas E, Zhang J, Traynelis SF, et al. Structural Mechanism of Functional Modulation by Gene Splicing in NMDA Receptors. *Neuron.* 2018; 98(3): 521-529. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2018.03.034>

67. Horton L, Rhodes J, Wilson L. Randomized controlled trials in adult

traumatic brain injury: A systematic review on the use and reporting of clinical outcome assessments. *J Neurotrauma*. 2018; 35(17):2005-2014. doi: 10.1089/neu.2018.5648

68. Bertoli A, Sorgato MC. Neuronal pathophysiology featuring PrPC and its control over Ca²⁺ metabolism. *Prion*. 2018; 12(1): 28-33. doi: 10.1080/19336896.2017.1412912

69. Shi LL, Dong J, Ni H, Geng JS, Wu T. Felbamate as an add-on therapy for refractory partial epilepsy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017; 7(7):CD008295. doi: 10.1002/14651858.CD008295.pub4

70. Socodatoa R, Portugal CC, Rodrigues A, Henriques J, Rodrigues C, Figueira C, et al. Redox tuning of Ca²⁺ signaling in microglia drives glutamate release during hypoxia. *Free Radic Biol Med*. 2018; 118:137-149. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.02.036

71. Sommer JB, Bach A, Rytter MH, Strømgaard K. In vitro and in vivo effects of a novel dimeric inhibitor of PSD-95 on excitotoxicity and functional recovery after experimental traumatic brain injury. *Eur J Neurosci*. 2017; 45(2): 238-248. DOI:10.1111/ejn.13483

72. Новицкая-Усенко ЛВ, Муслин ВП, Криштафор АА. Два противоположных эффекта NMDA-рецепторов с точки зрения расширения диапазона фармакологической нейропроекции при острой ишемии головного. *Медицина неотложных состояний*. 2016; 1(72): 24-29.

73. Busingye DS, Turner RJ, Vink R. Combined Magnesium/Polyethylene Glycol Facilitates the Neuroprotective Effects of Magnesium in Traumatic Brain Injury at a Reduced Magnesium Dose. *CNS Neurosci Ther*. 2016;22(10): 854-859. doi: 10.1111/cns.12591

74. Гудашева ТА, Тарасюк АВ, Поварнина ПЮ, Середенин СБ. Мозговой нейротрофический фактор и его низкомолекулярные миметики. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2017; 3: 3-13.

75. Ельский ВН, Зяблицев СВ. Моделирование черепно-мозговой травмы:

монография. Донецк: Новый мир; 2008. 140 с.

76. Jarahzadeh MH, Harati ST, Babaeizadeh H, Yasaei E, Bashar FR. The effect of intravenous magnesium sulfate infusion on reduction of pain after abdominal hysterectomy under general anesthesia: a double-blind, randomized clinical trial. *Electron Physician*. 2016; 8(7): 2602-2606.doi: 10.19082/2602

77. Ma MW, Wang J, Dhandapani KM, Wang R, Brann DW. NADPH oxidases in traumatic brain injury – Promising therapeutic targets? *Redox Biol*. 2018; 16: 285-293.doi: 10.1016/j.redox.2018.03.005

78. Beraki S, Litrus L, Soriano L, Monbureau M, To LK, Braithwaite SP, et al. A pharmacological screening approach for discovery of neuroprotective compounds in ischemic stroke.*PloSOne*. 2013; 248(2): 101-113.doi:10.1371/journal.pone.0069233

79. Galaj E, Seepersad N, Dakmak Z, Ranaldi R. Blockade of NMDA receptors blocks the acquisition of cocaine conditioned approach in rats. *Eur J Pharmacol*. 2018; 818: 480-485.DOI: 10.1016/J.Ejphar.2017.11.029

80. Lehnerer SM, Scheibe F, Buchert R, Kliesch S, Meisel A. Awakening with amantadine from a persistent vegetative state after subarachnoid haemorrhage. *BMJ Case Rep*. 2017; 24: 203-205.doi: 10.1136/bcr-2017-220305

81. Clifton GL, Valadka A, Zygun D, Coffey CS, Drever P, Fourwinds S, et al. Very early hypothermia induction in patients with severe brain injury (the National Acute Brain Injury Study: Hypothermia II): a randomised trial. *Lancet Neurol*. 2011; 10(2): 131-139.doi: 10.1016/S1474-4422(10)70300-8

82. Kawasaki-Yatsugi S, Ichiki C, Yatsugi S, Takahashi M, Shimizu-Sasamata M, Yamaguchi T, et al. Neuroprotective effects of an AMPA receptor antagonist YM872 in a rat transient middle cerebral artery occlusion model. *Neuropharmacology*.2000; 39(2):211-217. doi: 10.1016/s0028-3908(99)00117-3

83. Peat J, Barton B. *Medical statistics: a guide to data analysis and critical appraisal*. NY: Blackwell Publishing; 2005. 324 p.

84. Juengst SB, Kumar RG, Failla MD, Goyal A, Wagner AK. *Acute*

inflammatory biomarker profiles predict depression risk following moderate to severe traumatic brain injury. *J Head Trauma Rehabil.* 2015; 30(3): 207-218.doi: 10.1097/HTR.0000000000000031

85. Park YS, Kogeichi Y, Shida Y, Nakase H. Efficacy of the All-in-One Therapeutic Strategy for Severe Traumatic Brain Injury: Preliminary Outcome and Limitation. *Korean J Neurotrauma.* 2018; 14(1): 6-13.doi: 10.13004/kjnt.2018.14.1.6

86. Semenenko S, Semenenko A, Semenenko N, Dobrovanov O, Dmytriiev D, Vidiščák M. The influence of the course infusion of ademol on the pool of adenyl nucleotides and intermediates of carbohydrate exchange in the brain of rats with traumatic brain injury. *Lekársky obzor.* 2021; 70(6): 212–215.

87. Deepika A, Devi BI, Shukla D, SathyaprabhaTN, Christopher R, Ramesh SS. Neuroimmunology of Traumatic Brain Injury: A Longitudinal Study of Interdependency of Inflammatory Markers and Heart Rate Variability in Severe Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma.* 2018; 35(10):1124-1131.doi: 10.1089/neu.2017.5151

88. Semenenko S, Semenenko A, Saienko A, Semenenko N, Konovalova N, Babina Y, Nazarchuk H. Study of the Effect of Ademol on the Dynamics of S 100 Protein in Rats with Traumatic Brain Injury. *Journal of Pharmaceutical Research International JPRI.* 2022; 34(25A): 33–37. DOI: 10.9734/jpri/2022/v34i25A35945

89. Кочетов ГА. Практическое руководство по энзимологии. М.: Высшая школа; 1980. 272 с.

90. Janish K, Nguyen HS, Patel M. Management of Adult Traumatic Brain Injury: A Review.*Journal of Trauma & Treatment.* 2016; 5(3): 300-320. DOI:10.4172/2167-1222.1000320

91. Semenenko SI, Khrebtii HI, Semenenko AI. Investigation of the impact of amantadine sulphate on certain pathogenetic mechanisms of traumatic brain injury. *Deutscher Wissenschaftsherold German Science Herald.*2019; 4: 23–26.DOI:10.19221/201945

92. Kim AY, Baik EJ. Glutamate Dehydrogenase as a Neuroprotective Target Against Neurodegeneration. *Neurochem Res.* 2018; 44(1):147-153. doi: 10.1007/s11064-018-2467-1
93. Лихтерман ЛБ. Черепно-мозговая травма. Диагностика и лечение. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2014. 488 с.
94. Di Battista AP, Rhind SG, Hutchison MG, Hassan S, Shiu MY, Inaba K, et al. Inflammatory cytokine and chemokine profiles are associated with patient outcome and the hyperadrenergic state following acute brain injury. *J Neuroinflammation.* 2016; 13: 40-44. doi: 10.1186/s12974-016-0500-3
95. Bar-Or D, Bar-Or R, Rael LT, Brody EN. Oxidative stress in severe acute illness. *Redox Biol.* 2015; 4: 340-345. doi: 10.1016/j.redox.2015.01.006
96. Прохорова МИ. Современные методы биохимических исследований. Л.: Изд-во Ленинградского ун-та; 1982. 272 с.
97. Penn DL, Chi H, Proctor MR. Severe Traumatic Brain Injury. *Neurosurgery.* 2018; 82(1): 9-10. doi: 10.1093/neuros/nyx539
98. Jullienne A, Obenaus A, Ichkova A, Savona-Baron C, Pearce WJ, Badaut J. Chronic cerebrovascular dysfunction after traumatic brain injury. *J Neurosci Res.* 2016; 94(7): 609-622. doi: 10.1002/jnr.23732
99. Contestabile A, Ciania E, Contestabile A. Dietary restriction differentially protects from neurodegeneration in animal models of excitotoxicity. *Brain Research.* 2004; 1002(1-2): 162-166. doi: 10.1016/j.brainres.2004.01.005
100. Bendix I, Serdar M, Herz J, von Haefen C, Nasser F, Rohrer B, et al. Inhibition of acetylcholinesterase modulates NMDA receptor antagonist mediated alterations in the developing brain. *International Journal of Molecular Science.* 2014; 15(3): 3784-3798. doi: 10.3390/ijms15033784
101. Семененко СІ, Ходаківський ОА, Семененко АІ, Семененко ОМ. Оцінювання впливу різних церебропротекторів на динаміку церебральної та центральної гемодинаміки при черепно-мозковій травмі в щурів. *Запоріз. мед.*

журн. 2020; 22(5): 622–626. DOI: <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2020.5.214725>

102. Кочетов АГ, Лянг ОВ, Масенко ВП, Жиров ИВ, Наконечников СН, Терещенко СН. Методы статистической обработки медицинских данных: Методические рекомендации для ординаторов и аспирантов медицинских учебных заведений, научных работников. М.: РКНПК; 2012. 42 с.

103. Glasgow NG, Povysheva NV, Azofeifa AM, Johnson JW. Memantine and Ketamine Differentially Alter NMDA Receptor Desensitization. *J Neurosci.* 2017; 37(40): 9686-9704. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1173-17.2017

104. Petrie A, Sabin C. *Medical Statistics at a Glance*. 4th ed. Blackwell Publishing; 2005; 157 p. ISBN: 978-1-119-16783-9

105. Hifumi T, Kuroda Y, Kawakita K, Yamashita S, Oda Y, Dohi K, et al. Therapeutic hypothermia in patients with coagulopathy following severe traumatic brain injury. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* 2017; 25(1): 120-124. doi: 10.1186/s13049-017-0465-y

106. Petty MA, Weintraub PM, Maynard KI. ACEA 1021: flip or flop? *CNS Drug Rev.* 2004; 10(4): 337-348. doi: 10.1111/j.1527-3458.2004.tb00031.x

107. Glasgow NG, Wilcox MR, Johnson JW. Effects of Mg²⁺ on recovery of NMDA receptors from inhibition by memantine and ketamine reveal properties of a second site. *Neuropharmacology.* 2018; 137: 344-358. doi: 10.1016/j.neuropharm.2018.05.017

108. Papazian I, Kyrargyri V, Evangelidou M, Voulgari-Kokota A, Probert L. Mesenchymal Stem Cell Protection of Neurons against Glutamate Excitotoxicity Involves Reduction of NMDA-Triggered Calcium Responses and Surface GluR1, and Is Partly Mediated by TNF. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(3): 108-121. doi: 10.3390/ijms19030651

109. Day NL, Carle MS, Floyd CL. Post-injury administration of a combination of memantine and 17 β -estradiol is protective in a rat model of traumatic brain injury. *Neurochem Int.* 2017; 111:57-68. doi: 10.1016/j.neuint.2017.04.018

110. Roquilly A, Lasocki S, Moyer JD, Huet O, Perrigault PF, Dahyot-Fizelier C, et al. COBI (COntinuous hyperosmolar therapy for traumatic Brain-Injured patients) trial protocol: a multicentre randomised open-label trial with blinded adjudication of primary outcome. *BMJ Open*. 2017; 7(9): 1800-1835. doi: 10.1136/bmjopen-2017-018035

111. Семененко СІ, Ходаківський ОА, Хребтій ГІ, Семененко АІ, Саєнко АВ. Вплив введення амантадину сульфату на перебіг процесів оксидативного стресу в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою. Клінічна та експериментальна патологія. 2019; 18(4): 67–73.

112. Pietro VD, Amorini AM, Tavazzi B, Vagnozzi R, Logan A, Lazzarino G, et al. The molecular mechanisms affecting N-acetylaspartate homeostasis following experimental graded traumatic brain injury. *Mol Med*. 2014; 20(1): 147-157. doi: 10.2119/molmed.2013.00153

113. Le Roux P, Menon DK, Citerio G, Vespa P, Bader MK, Brophy GM, et al. Consensus summary statement of the International Multidisciplinary Consensus Conference on multimodality monitoring in neurocritical care: a statement for healthcare professionals from the Neurocritical Care Society and the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med*. 2014; 40(9): 1189-1209. doi: 10.1007/s00134-014-3369-6

114. Бондар МВ, Грушовський ІТ. Сучасні аспекти метаболічного захисту мозку. Медицина неотложных состояний. 2013; 6(53): 58-62. Доступно: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Medns_2013_6_7

115. Карабань ІН. Применение блокатора глутаматных рецепторов амантадина в неврологии. *Международ. невролог. журнал*. 2012; 2(48): 195-201.

116. Helmy A, De Simoni MG, Guilfoyle MR, Carpenter KLH, Hutchinson PJ. Cytokines and innate inflammation in the pathogenesis of human traumatic brain injury. *Prog Neurobiol*. 2011; 95(3): 352-372. doi: 10.1016/j.pneurobio.2011.09.003

117. Chen SR, Jin XG, Pan HL. Endogenous nitric oxide inhibits spinal NMDA

receptor activity and pain hypersensitivity induced by nerve injury. *Neuropharmacology*. 2017;125: 156-165. doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.07.023

118. Orihara K, Odemuyiwa SO, Stefura WP, Ilarraza R, Hay Glass KT, Moqbel R. Neurotransmitter signalling via NMDA receptors leads to decreased T helper type 1-like and enhanced T helper type 2-like immune balance in humans. *Immunology*. 2018; 153(3): 368-379. doi: 10.1111/imm.12846

119. Pinto MC, Lima IV, da Costa FL, Rosa DV, Mendes-Goulart VA, Resende RR, et al. Glycine transporters type 1 inhibitor promotes brain preconditioning against NMDA-induced excitotoxicity. *Neuropharmacology*. 2015;89: 274-281. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.10.003

120. Lok J, Wang XS, Xing CH, Maki T-K, Wu L-M, Guo S-Z, et al. Targeting the neurovascular unit in brain trauma. *CNS Neurosci Ther*. 2015; 21(4): 304-308. doi: 10.1111/cns.12359

121. Palmer AM, Marion DW, Botscheller ML, Swedlow PE, Styren SD, DeKosky ST. Traumatic brain injury-induced excitotoxicity assessed in a controlled cortical impact model. *J Neurochem*. 1993; 61(6): 2015-2024. doi: 10.1111/j.1471-4159.1993.tb07437.x

122. Sasaki-Hamada S, Suzuki A, Sanai E, Matsumoto K, Oka J-I. Neuroprotection by chotosan, a Kampo formula, against glutamate excitotoxicity involves the inhibition of GluN2B-, but not GluN2A-containing NMDA receptor-mediated responses in primary cultured cortical neurons. *J Pharmacol Sci*. 2017; 135(3): 134-137. doi: 10.1016/j.jphs.2017.10.009

123. Carteron L, Bouzat P, Oddo M. Cerebral Microdialysis Monitoring to Improve Individualized Neurointensive Care Therapy: An Update of Recent Clinical Data. *Front. Neurol*. 2017; 8: 1-10. doi: 10.3389/fneur.2017.00601

124. Ходаківський ОА. Оцінка впливу експериментальної терапії адемолом на інтенсивність перебігу деструктивних змін в мембранах нейронів у монгольських піщанок в умовах гострої церебральної ішемії. *Вісник морфології*;

2011; 1: 62-65.

125. Ходаківський ОА. Характеристика протиішемічних та мнемотропних властивостей адемолу при модельному гострому порушенні мозкового кровообігу у щурів. *Фізіологічний журнал*. 2013; 59(5): 71-77.

126. Morrison AM, Houtrow A, Zullo J, Kochanek P, Vetterly C, Fink E. Neurostimulant prescribing patterns in children admitted to the ICU after traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2018; 36(2):293-299. doi: 10.1089/neu.2017.5575

127. Ходаківський ОА, Степанюк ПІ. Оцінка фармакотерапевтичної ефективності двох похідних адамантану (сполук ЮК-1 та ЮК-4) за динамікою показника летальності на моделі гострого порушення мозкового кровообігу у монгольських піщанок. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2011; 15(1): 47-50.

128. Ali Z, Prabhakar H. Fluid Management during Neurosurgical Procedures. *Journal of Neuroanaesthesiology & Critical Care*. 2016; 3(4): 35–40.

129. Obrenovitch TP, Urenjak JJ. Is high extracellular glutamate the key to excitotoxicity in traumatic brain injury? *Neurotrauma*. 1997; 14(10): 677-698. doi: 10.1089/neu.1997.14.677

130. Bruno V, Battaglia G, Copani A, D'Onofrio M, Di Iorio P, De Blasi A, et al. Metabotropic glutamate receptor subtypes as targets for neuroprotective drugs. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 2001; 9(21): 1013-1033. doi: 10.1097/00004647-200109000-00001

131. Семененко СІ, Семененко АІ, Семененко ІФ. Вплив амантадину сульфату на стан церебральної та центральної гемодинаміки при експериментальній черепно-мозковій травмі. *Медицина невідкладних станів*. 2019; 6(101): 106–110. DOI: 10.22141/2224-0586.6.101.2019.179607

132. Ogden KK, Traynelis SF. New advances in NMDA receptor pharmacology. *Trends Pharmacol Sci*. 2011; 32(12): 726-733. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2011.08.003>

133. Ходаковский АА, Загорій ГВ. Нейропротекторные свойства адемола в условиях модельного ишемического инсульта. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2013; 11(спецвыпуск): 144-145.

134. Becker EB, Bonni A. Cell cycle regulation of neuronal apoptosis in development and disease. *Prog Neurobiol*. 2004; 72(1): 1-25.doi: 10.1016/j.pneurobio.2003.12.005

135. Ельський ВН, Зяблицев СВ, Крюк ЮЯ, Кривобок ГК, Золотухин СЕ, Колесникова СВ, и др. Патологія травми (обзор експериментального колективного дослідження проблеми за 40 років). *Вісник морфології*.2015; 1:242-251. Доступно: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vismorf_2015_21_1_62

136. Assis-Nascimento P, Tsenkina Y, Liebl DJ. EphB3 signaling induces cortical endothelial cell death and disrupts the blood-brain barrier after traumatic brain injury.*Cell Death Dis*. 2018; 9(1): 7-8.doi: 10.1038/s41419-017-0016-5

137. Daley MJ, Brown CV. Late venous thromboembolism prophylaxis after craniotomy in acute traumatic brain injury. *Am Surg*. 2015; 81(2): 207-211.DOI:10.1177/000313481508100236

138. Alsharafi WA, Luo Z, Long X, Xie Y, Xiao B. MicroRNA in glutamate receptor-dependent neurological diseases. *Clin Sci (Lond)*. 2017; 131(14): 1591-1604.doi: 10.1042/CS20170964

139. Günther M, Al Nimer F, Piehl F, Risling M, Mathiesen T. Susceptibility to Oxidative Stress Is Determined by Genetic Background in Neuronal Cell Cultures. *eNeuro*. 2018; 5(2): 335-336.doi: 10.1523/ENEURO.0335-17.2018

140. Hatefi M, Behzadi S, Dastjerdi MM, Ghahnavieh AA, Rahmani A, Mahdizadeh F, et al. Correlation of Homocysteine with Cerebral Hemodynamic Abnormality, Endothelial Dysfunction Markers, and Cognition Impairment in Patients with Traumatic Brain Injury. *World Neurosurg*. 2017; 97: 70-79. doi: 10.1016/j.wneu.2016.09.080

141. Ходаківський ОА. Вплив адемола на показники енергетичного обміну

в головному мозку щурів із моделлю гострої церебральної ішемії. Буковинський медичний вісник. 2013; 17(2): 140-143. Доступно: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bumv_2013_17_2_38

142. Nagoshi N, Nakashima H, Fehlings MG. Riluzole as a neuroprotective drug for spinal cord injury: from bench to bedside. *Molecules*. 2015; 20(5): 7775-7789. doi: 10.3390/molecules20057775

143. Nwachuku EL, Puccio AM, Fetzick A, Scruggs B, Chang Y-F, Shutter LA, et al. Intermittent versus continuous cerebrospinal fluid drainage management in adult severe traumatic brain injury: assessment of intracranial pressure burden. *Neurocrit Care*. 2013; 20(1): 49-53. doi: 10.1007/s12028-013-9885-3

144. Sacco TL, Delibert SA. Management of Intracranial Pressure: Part I: Pharmacologic Interventions. *Dimens Crit Care Nurs*. 2018; 37(3): 120-129. doi: 10.1097/DCC.0000000000000293

145. Izumi Y, Zorumski CF. Neuroprotective effects of pyruvate following NMDA-mediated excitotoxic insults in hippocampal slices. *Neurosci. Lett*. 2010; 478(3): 131-135. doi: 10.1016/j.neulet.2010.04.078

146. Mei Z, Qiu J, Alcon S, Hashim J, Rotenberg A, Sun Y, et al. Memantine improves outcomes after repetitive traumatic brain injury. *Behav Brain Res*. 2018; 340: 195-204. doi: 10.1016/j.bbr.2017.04.017

147. Corps KN, Roth TL, McGavern DB. Inflammation and neuroprotection in traumatic brain injury. *JAMA Neurol*. 2015; 72(3): 355-362. doi: 10.1001/jamaneurol.2014.3558

148. Lanshakov DA, Sukhareva EV, Kalinina TS, Dygalo NN. Dexamethasone-induced acute excitotoxic cell death in the developing brain. *Neurobiol Dis*. 2016; 91: 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.02.009>

149. Черешнюк ІЛ, Ходаківська ОВ, Ходаківський ОА, Прокопенко СВ. Порівняльна оцінка нейроретинопротективної активності адемоу окремо та за умови його поєднання з мексидолом при їх нарізному застосуванні в комплексній

терапії перехідної ішемії ока щурів за змінами метаболічних процесів у сітківці. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2017; 2: 89-96.DOI 10.11603/1811-2471.2017.v0.i2.7521

150. Bjugstad KB, Rael LT, Levy S, Carrick M, Mains CW, Slone DS, et al. Oxidation-Reduction Potential as a Biomarker for Severity and Acute Outcome in Traumatic Brain Injury. *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 16: 425-7.doi: 10.1155/2016/6974257

151. Najem D, Rennie K, Ribocco-Lutkiewicz M, Ly D, Haukenfrers J, Liu Q, et al. Traumatic Brain Injury: Classification, Models and Markers. *Biochem Cell Biol*. 2018; 25: 160-162.doi: 10.1139/bcb-2016-0160

152. Ходаківський ОА. Вплив адемолу на стан оксидантно-антиоксидантного балансу в головному мозку щурів із моделлю гострої церебральної ішемії. *Питання експериментальної та клінічної медицини*. 2013;17(1): 123-127.http://nbuv.gov.ua/UJRN/pekm_2013_17_1_25

153. Bergold PJ. Treatment of Traumatic Brain Injury with Anti-Inflammatory Drugs.*Experimental Neurology*. 2016;275(3): 367-380. doi: 10.1016/j.expneurol.2015.05.024

154. McGrow C.P. Experimental Cerebral Infarction Effects of Pentobarbital in Mongolian Gerbils. *Arch. Neurol*. 1977. V. 34. № 6. P. 334–336. <https://doi.org/10.1001/archneur.1977.00500180028006>

155. Семчишин МГ, Шевага ВМ, Задорожна БВ. Особливості клініки та перебігу закритої черепно-мозкової травми легкого ступеня тяжкості у вояків антитерористичної операції у віддаленому періоді.*Бук. мед. вісник*. 2016; 20(3(79)): 171-174.DOI:10.24061/2413-0737.XX.3.79.2016.159

156. Atkins CM, Bramlett HM, Dietrich WD. Is temperature an important variable in recovery after mild traumatic brain injury? *F1000Res*. 2017; 6: 20-31. doi: 10.12688/f1000research.12025.1

157. Cornelius C, Crupi R, Calabrese V, Graziano A, Milone P, Pennisi G, et al.

Traumatic Brain Injury: Oxidative Stress and Neuroprotection. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2013; 19(8): 836-853. doi: 10.1089/ars.2012.4981

158. McConeghy KW, Hatton J, Hughes L, Cook AM. A review of neuroprotection pharmacology and therapies in patients with acute traumatic brain injury. *CNS Drugs*. 2012;26(7): 613-636.doi: 10.2165/11634020-000000000-00000

159. Авдеева ЖИ, Алпатова НА, Солдатов АА, Бондарев ВП, Бунятян НД, Меркулов ВА, и др. Особенности доклинических исследований биотехнологических лекарственных препаратов. *Иммунология*. 2015; 5: 306-312.

160. Ходаковский АА, Маринич ЛИ, Багаури ОВ. Особенности формирования постреперфузионного повреждения нейронов – характеристика модели «ишемия–реперфузия». Новые направления и перспективы развития современной церебропротекторной терапии ишемического инсульта. *Врач-аспирант*. 2013; 3(58): 69-76.

161. BurdI, Welling J, Kannan G, Johnston M. Excitotoxicity as a Common Mechanism for Fetal Neuronal Injury with Hypoxia and Intrauterine Inflammation.*Adv Pharmacol*.2016; 76:85-101. doi: 10.1016/bs.apha.2016.02.003

162. Семененко СІ, Ходаківський ОА, Семененко ОМ, Яковлева ОО, Семененко НО. Оцінка нейропротективних властивостей адемоу в умовах експериментальної черепно-мозкової травми. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2019; 23(2): 209–211. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2019-23(2)-04

163. Minaya DM, Larson RW, Podlasz P, Czaja K. Glutamate-dependent regulation of food intake is altered with age through changes in NMDA receptor phenotypes on vagal afferent neurons. *Physiol Behav*. 2018; 189:26-31.doi: 10.1016/j.physbeh.2018.02.042

164. Scerrati A, De Rosa S, Mongardi L, Cavallo MA, Trapella G, De Bonis P. Standard of care, controversies and innovations in the medical treatment of Severe Traumatic Brain Injury (STBI). *J Neurosurg Sci*. 2018; 18: 462-464.doi:

10.23736/S0390-5616.18.04462-4

165. Mettang M, Reichel SN, Lattke M, Palmer A, Abaei A, Rasche V, et al. IKK2/NF- κ B signaling protects neurons after traumatic brain injury. *FASEB J.* 2018; 32(4): 1916-1932. doi: 10.1096/fj.201700826R

166. Ert IP., Rohde B., Selzer P. Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and Its Application to the Prediction of Drug Transport Properties (2000) *J. Med. Chem.*, Vol. 43 (20), pp. 3714-3717.

167. Al-Suwailem E., Abdi S, El-Ansary A. Sex differences in the glutamate signaling pathway in juvenile rats. *J Neurosci Res.* 2018; 96(3): 459-466. doi: 10.1002/jnr.24144

168. Piva A, Gerace E, Chio MD, Osanni L, Padovani L, Caffino L, et al. The metaplastic effects of NMDA receptor blockade on reactivation of instrumental memories in rats. *Neurobiol Learn Mem.* 2018; 154:87-96. doi: 10.1016/j.nlm.2018.01.007

169. Koliass AG, Guilfoyle MR, Helmy A, Allanson J, Hutchinson PJ. Traumatic brain injury in adults. *Pract. Neurol.* 2013; 13(4): 228-235. doi: 10.1136/practneurol-2012-000268

170. Amorini AM, Lazzarino G, Di Pietro V, Signoretti S, Lazzarino G, Belli A, et al. Severity of experimental traumatic brain injury modulates changes in concentrations of cerebral free amino acids. *J Cell Mol Med.* 2017; 21(3): 530-542. doi: 10.1111/jcmm.12998

171. Huang X, Wan D, Lin Y, Xue N, Hao J, Ma N, [et al.] Endothelial Progenitor Cells Correlated with Oxidative Stress after Mild Traumatic Brain Injury. *Yonsei Med J.* 2017; 58(5): 1012-1017. doi: 10.3349/ymj.2017.58.5.1012

172. Gyoneva S, Ransohoff RM. Inflammatory reaction after traumatic brain injury: therapeutic potential of targeting cell-cell communication by chemokines. *Trends Pharmacol Sci.* 2015; 36(7): 471-480. doi: 10.1016/j.tips.2015.04.003

173. Khalili H, Niakan A, Ghaffaripour F. Effects of cerebrolysin on functional

recovery in patients with severe disability after traumatic brain injury: A historical cohort study. *Clin Neurol Neurosurg.* 2017; 152: 34-38.doi: 10.1016/j.clineuro.2016.11.011

174. Скоропліт СМ, Білецький ОВ. Перспективи нейропротекції у хворих із тяжкою черепно-мозковою травмою (аналітичний огляд). *Медицина неотложных состояний.* 2017; 4(83): 86-99.DOI: 10.22141/2224-0586.4.83.2017.107429

175. Hammond FM, Sherer M, Malec JF, Zafonte RD ,Dikmen S, Bogner J, et al. Amantadine Did Not Positively Impact Cognition in Chronic Traumatic Brain Injury: A Multi-Site, Randomized, Controlled Trial. *J Neurotrauma.* 2018; 35(19):2298-2305.doi: 10.1089/neu.2018.5767

176. Yulug B, Hanoglu L, Yamaner FY, Kilic E, Schabitz WR. Commentary: Hypothesis Focused Ultrasound and NXY-059 in Experimental Cerebral Ischemia: A New Therapeutic Opportunity? *CNS Neurol Disord Drug Targets.*2016; 15(9):1010-1013.doi: 10.2174/187152731509161007122800

177. Caraci F, Battaglia G, Sortino MA, Spampinato S, Molinaro G, Copani A, et al. Metabotropic glutamate receptors in neurodegeneration/neuroprotection: still a hot topic? *Neurochem. Int.* 2012; 61(4): 559-565.doi: 10.1016/j.neuint.2012.01.017

178. Dziuganowska ZA, Slepokura K, Volle JN, Virieux D, Pirat J-L, Kafarski P. Structural Analogues of Selfotel. *J Org Chem.* 2016; 81(12): 4947-4954.doi: 10.1021/acs.joc.6b00220

179. Park KJ, Park E, Liu E, Baker AJ. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells protect postischemic axons after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2014; 34(2): 357-366.doi: 10.1038/jcbfm.2013.216

180. Крылов ВВ, Пурас ЮВ. Патофизиологические механизмы вторичного повреждения мозга при черепно-мозговой травме. *Неврологический журнал.* 2013; 4: 4-7.

181. Pomara C, Neri M, Bello S, Carmela Fiore, Riezzo I, et al. Neurotoxicity by synthetic androgen steroids: oxidative stress, apoptosis, and neuropathology: A review.

Curr Neuropharmacol. 2015; 13(1): 132-145.doi: 10.2174/1570159X13666141210221434

182. Cao Y, Gao Y, Xu S, Bao J, Lin Y, Luo X, et al. Glutamate carboxypeptidase II gene knockout attenuates oxidative stress and cortical apoptosis after traumatic brain injury. *BMC Neurosci.* 2016; 17(15):16-25. doi: 10.1186/s12868-016-0251-1

183. Rodríguez-Rodríguez A, Egea-Guerrero JJ, Vilches-Arenas A, Gordillo-Escobar E, de Azúa-López ZR, Murillo-Cabezas F. Prognostic value of total antioxidant capacity to predict functional outcome in traumatic brain injury patients. *Clin Chem Lab Med.* 2017; 55(11): 265-267.doi: 10.1515/cclm-2017-0022

184. Rameau GA, Chiu LY, Ziff EB. NMDA receptor regulation of nNOS phosphorylation and induction of neuron death. *Neurobiology of Aging.* 2003; 24(8): 1123-1133. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2003.07.002

185. Жабоедова НВ, Ходаківський ОА, Рокунець ІЛ. Характеристика показників центральної гемодинаміки, внутрішньочерепного тиску та мікроциркуляції в капілярах кори головного мозку щурів із різними підтипами геморагічного інсульту на тлі інфузії розчинів адемола або німодипіну. *BiomedicalandBiosocialAnthropology.* 2016; 27: 62-66.

186. Chen N, Xu RJ, Wang LL, Zhang M, Feng SC, Zhou JY, et al. Protective effects of magnesium sulfate on radiation induced brain injury in rats. *Curr Drug Deliv.* 2018; 15(8):1159-1166.doi: 10.2174/1567201815666180124112200

187. Engin AB, Engin ED, Karakus R, Aral A, Gulbahar O, Engin A. N-Methyl-D aspartate receptor-mediated effect on glucose transporter-3 levels of high glucose exposed-SH-SY5Y dopaminergic neurons. *Food Chem Toxicol.* 2017; 109(1): 465-471.doi: 10.1016/j.fct.2017.09.038

188. Faden AI, Demediuk P, Panter SS, Vink R. The role of excitatory amino acids and NMDA receptors in traumatic brain injury. *Science.* 1989; 244(4906):798-800. doi: 10.1126/science.2567056

189. Hussain Y, Krishnamurthy S. Piracetam attenuates binge eating disorder related symptoms in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2018; 169:35-47. doi: 10.1016/j.pbb.2018.04.003

190. Chakraborty S, Skolnick B, Narayan RK. Neuroprotection Trials in Traumatic Brain Injury. *Current Neurology and Neuroscience Reports.* 2016; 16(4): 20-29. doi: 10.1007/s11910-016-0625-x

191. Prabhakaran K, Petrone P, Lombardo G, Stoller C, Policastro A, Marini CP. Mortality rates of severe traumatic brain injury patients: impact of direct versus nondirect transfers. *J Surg Res.* 2017; 219: 66-71. doi: 10.1016/j.jss.2017.05.103

192. Иванова МФ, Евтушенко СК, Евтушенко ИС. Особенности консервативной терапии черепно-мозговых травм в остром и отдаленном периодах (лекция). *Міжнародний неврологічний журнал.* 2015; 2(72): 76-80. Доступно: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mnzh_2015_2_13

193. Halstrom A., MacDonald E, Neil C, Arendts G, Fatovich D, Fitzgerald M. Elevation of oxidative stress indicators in a pilot study of plasma following traumatic brain injury. *J Clin Neurosci.* 2017; 35: 104-108. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2016.09.006>

194. Neri M, Büttner A, Fineschi V. Brain Injury due to Mechanical Trauma and Ischemic-Hypoxic Insult: Biomarkers of Brain Injury and Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017: 8923472. doi: 10.1155/2017/8923472

195. Olsen GM, Sonnewald U. Glutamate: Where does it come from and where does it go? *Neurochem Int.* 2015; 88: 47-52. doi: 10.1016/j.neuint.2014.11.006

196. Ma Y, Nie H, Chen H, Li J, Hong Y, Wang B, et al. NAD⁺/NADH metabolism and NAD⁺-dependent enzymes in cell death and ischemic brain injury: current advances and therapeutic implications. *Curr Med Chem.* 2015; 22(10): 1239-1247. doi: 10.2174/0929867322666150209154420

197. Kim HJ, Tsao JW, Stanfill AG. The current state of biomarkers of mild

traumatic brain injury. *JCI Insight*. 2018; 3(1): 97105-97108. doi: 10.1172/jci.insight.97105

198. Lau A, Tymianski M. Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*. 2010; 460(2): 525-542. doi: 10.1007/s00424-010-0809-1

199. Ходаківський ОА. Оцінка впливу похідного адамантану (сполуки ЮК-1) на церебральну гемодинаміку в умовах наркозу та гострої церебральної ішемії. *Патологія*. 2010; 2: 35-37.

200. Malomouzh AI, Nurullin LF, Arkhipova SS, Nikolsky EE. NMDA receptors at the endplate of rat skeletal muscles: precise postsynaptic localization. *Muscle and Nerve*. 2011; 44(6): 987-989. doi: 10.1002/mus.22250

201. Черний ВИ, Андропова ИА, Городник ГА, Назаренко КВ, Черний ТВ. Антагонист глутаматных NMDA-рецепторов (амантадина сульфат) в интенсивной терапии тяжелой черепно-мозговой травмы. *Медицина неотложных состояний*. 2015; 5(68): 81-91. Доступно: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Medns_2015_5_15

202. Oshima-Takago T, Takago H. NMDA receptor-dependent presynaptic inhibition at the calyx of Held synapse of rat pups. *Open Biol*. 2017; 7(7): 32-38. doi: 10.1098/rsob.170032

203. Kuo BJ, Vaca SD, Vissoci JRN, Staton CA, Xu L, Muhumuza M, et al. A prospective neurosurgical registry evaluating the clinical care of traumatic brain injury patients presenting to Mulago National Referral Hospital in Uganda. *PLoS One*. 2017; 12(10): 182-185. doi: 10.1371/journal.pone.0182285

204. Cooper AJ, Jeitner TM. Central role of glutamate metabolism in the maintenance of nitrogen homeostasis in normal and hyperammonemic brain. *Biomolecules*. 2016; 6(2): 390-398. doi: 10.3390/biom6020016

205. Girling KD, Demers MJ, Laine J, Zhang S, Wang YT, Graham RK. Activation of caspase-6 and cleavage of caspase-6 substrates is an early event in NMDA receptor-mediated excitotoxicity. *J Neurosci Res*. 2018; 96(3): 391-406. doi:

10.1002/jnr.24153

206. Sun M, McDonald SJ, Brady RD, O'Brien TJ, Shultz SR. The influence of immunological stressors on traumatic brain injury. *Brain Behav Immun*. 2018; 69: 618-628. doi: 10.1016/j.bbi.2018.01.007

207. Крылов ВВ, редактор. Лекции по черепно-мозговой травме: учебное пособие. М.: Медицина; 2010. 320 с.

208. Dash NH, Chavali S. Management of traumatic brain injury patients. *Korean J Anesthesiol*. 2018; 71(1): 12-21. doi: 10.4097/kjae.2018.71.1.12

209. Daley MJ, Enright Z, Nguyen J, Ali S, Clark A, Aydelotte JD, et al. Adenosine diphosphate platelet dysfunction on thromboelastogram is independently associated with increased mortality in traumatic brain injury. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2017; 43(1): 105-111. doi: 10.1007/s00068-016-0643-z

210. Arun P, Ariyannur PS, Moffett JR, Xing G, Hamilton K, Grunberg NE, et al. Metabolic acetate therapy for the treatment of traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2010; 27(1): 293-298. doi: 10.1089/neu.2009.0994

211. Чекман ИС, Губский ЮИ, Беленичев ИФ. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов. Метод. рекомендації. Киев; 2010. 81 с.

212. Bensalah M, Donaldson M, Aribi Y, Iabassen M, Cherfi L, Nebbal M, et al. Cortisol evaluation during the acute phase of traumatic brain injury—A prospective study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2018; 88(5): 627-636. doi: 10.1111/cen.13562

213. Kim A, Kim YE, Yun JY, Kim H-J, Yang H-J, Lee W-W, et al. Amantadine and the Risk of Dyskinesia in Patients with Early Parkinson's Disease: An Open-Label, Pragmatic Trial. *J Mov Disord*. 2018; 11(2): 65-71. doi: 10.14802/jmd.18005

214. Семененко СІ, Бурлака БС, Бурлака КА, Семененко ОМ. Розробка рідкої лікарської форми для інтраназального введення на основі адемоу. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022; 16(3): 205–213.

<https://doi.org/10.33250/16.03.205>

215. Garry PS, Ezra M, Rowland MJ, Westbrook J, Pattinson KTS. The role of the nitric oxide pathway in brain injury and its treatment– from bench to bedside. *Exp Neurol*. 2015; 263: 235-243.doi: 10.1016/j.expneurol.2014.10.017

216. McGinn MJ, Povlishock JT. Pathophysiology of Traumatic Brain Injury. *Neurosurgery Clinics of North America*. 2016; 27(4): 397-407.doi: 10.1016/j.nec.2016.06.002

217. Park Y, Luo T, Zhang F,Liu C, Bramlett HM, Dietrich WD, Hu B. Down-regulation of Src-kinase and glutamate-receptor phosphorylation after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2013;33: 1642-1649.doi: 10.1038/jcbfm.2013.121

218. Hardingham GE. Coupling of the NMDA receptor to neuroprotective and neurodestructive events.*Biochem Soc Trans*. 2009; 37(6): 1147-1160. doi: 10.1042/BST0371147

219. Kinoshita K. Traumatic brain injury: pathophysiology for neurocritical care. *J Intensive Care*. 2016; 4: 29-30. doi: 10.1186/s40560-016-0138-3

220. Anada RP, Wong KT, Jayapalan JJ, Hashim OH. Panel of serum protein biomarkers to grade the severity of traumatic brain injury. *Electrophoresis*. 2018; 39(18):2308-2315.doi: 10.1002/elps.201700407

221. Kolker S. Metabolism of amino acid neurotransmitters: the synaptic disorder underlying inherited metabolic diseases.*J Inherit Metab Dis*. 2018; 41(6):1055-1063.doi: 10.1007/s10545-018-0201-4

222. Kulkarni J, Thomas N, Hudaib AR, Hudaib A-R, Gavriliadis E, Grigg J, Tan R, et al. Effect of the Glutamate NMDA Receptor Antagonist Memantine as Adjunctive Treatment in Borderline Personality Disorder: An Exploratory, Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial.*CNS Drugs*. 2018; 16:506-508. doi: 10.1007/s40263-018-0506-8

223. Rowell SE, Fair KA, Barbosa RR, Watters JM, Bulger EM, Holcomb JB, et

al. The Impact of Pre-Hospital Administration of Lactated Ringer's Solution versus Normal Saline in Patients with Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma*. 2016; 33(11): 1054-1059. doi: 10.1089/neu.2014.3478

224. Guo H, Camargo LM, Yeboah F, Mary Ellen Digan, Honglin Niu, Yue Pan, et al. A NMDA-receptor calcium influx assay sensitive to stimulation by glutamate and glycine/D-serine. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 11608-11609. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11947-x>

225. Rickels E. Focus on traumatic brain injury. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2017; 43(6): 729-730. doi: 10.1007/s00068-017-0866-7

226. Lingam I, Robertson NJ. Magnesium as a Neuroprotective Agent: A Review of Its Use in the Fetus, Term Infant with Neonatal Encephalopathy, and the Adult Stroke Patient. *Dev Neurosci*. 2018; 40(1): 1-12. doi: 10.1159/000484891

227. Ameliorate JL, Ghabriel MN, Vink R. Magnesium enhances the beneficial effects of NK1 antagonist administration on blood-brain barrier permeability and motor outcome after traumatic brain injury. *Magnes Res*. 2017; 30(3): 88-97. doi: 10.1684/mrh.2017.0427

228. Мальцева ЛА, Гришин ВИ, Базиленко ДВ, Пшенко СО. Черепно-мозговая травма: интенсивная терапия, мониторинг, пороговые значения целевых показателей. *Медицина неотложных состояний*. 2018; 1(88): 72-75.

229. Danysz, Wojciech & Dekundy, Andrzej & Scheschonka, Astrid & Riederer, Peter. (2021). Amantadine: reappraisal of the timeless diamond—target updates and novel therapeutic potentials. *Journal of Neural Transmission*. 128. 10.1007/s00702-021-02306-2

230. Dou Y, Shen H, Feng D, Li H, Tian X, Zhang J, et al. Tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 participates in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in rats through inhibiting autophagy and promoting oxidative stress. *J Neurochem*. 2017; 142(3): 478-492. doi: 10.1111/jnc.14075

231. Scafidi S, O'Brien J, Hopkins I, Robertson C, Fiskum G, McKenna M.

Delayed cerebral oxidative glucose metabolism after traumatic brain injury in young rats. *J Neurochem.* 2009; 109(1): 189-197.doi: 10.1111/j.1471-4159.2009.05896.x

232. Hui H., Rao W., Zhang L, Xie Z, Peng C, Su N, et al. Inhibition of Na(+)-K(+)-2Cl(-) Cotransporter-1 attenuates traumatic brain injury-induced neuronal apoptosis via regulation of Erk signaling.*Neurochem Int.* 2016; 94: 23-31. DOI:10.1016/j.neuint.2016.02.002

233. Tai SH, Lee WT, Lee AC, Lin Y-W, Hung H-Y, Huang S-Y, et al. Therapeutic window for YC-1 following glutamate-induced neuronal damage and transient focal cerebral ischemia. *Mol Med Rep.* 2018; 17(5):6490-6496. doi: 10.3892/mmr.2018.8660

234. Черешнюк ІЛ, Повх ВЛ, Загорій ГВ, Ходаківський ОА, Остра ОА. Використання нейромаркерів (білок s 100) та методу протокової цитометрії для порівняльної оцінки впливу блокаторів NMDA-рецепторів на нейропроліферативні процеси в сітківці та зоровому нерві в умовах модельної ішемії-реперфузії ока. *Світ медицини та біології.* 2016; 2(56): 159-164. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/S_med_2016_2_42

235. Morris GF, Bullock R, Marshall SB, Marmarou A, Maas A, Marshall LF. Failure of the competitive N-methyl-D-aspartate antagonist Selfotel (CGS 19755) in the treatment of severe head injury: results of two phase III clinical trials. The Selfotel Investigators. *J Neurosurg.* 1999; 91(5): 737-743.doi: 10.3171/jns.1999.91.5.0737

236. Gu F, Chauhan V, Chauhan A. Glutathione redox imbalance in brain disorders. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2015;18: 89-95. doi: 10.1097/MCO.000000000000134

237. Savulich G, Menon DK, Stamatakis EA, Pickard, JD, Sahakian BJ. Personalised treatments for traumatic brain injury: cognitive, emotional and motivational targets. *Psychol Med.* 2018; 48:9.<https://doi.org/10.1017/S0033291718000892>

238. Jaber Z, Aouad P, Al Medawar M, Bahmad H, Abou-Abbass H, Ghandour H, et al. Role of Systems Biology in Brain Injury Biomarker Discovery:

Neuroproteomics Application. *Methods Mol Biol.* 2016; 1462: 157-174.doi: 10.1007/978-1-4939-3816-2_10

239. Khatri A, Burger PB, Swanger SA, Hansen KB, Zimmerman S, Karakas E, et al. Structural determinants and mechanism of action of a GluN2C-selective NMDA receptor positive allosteric modulator. *Mol Pharmacol.* 2014; 86(5): 548-560.doi: 10.1124/mol.114.094516

240. Llompart-Pou JA, Pérez-Bárcena J. Geriatric traumatic brain injury: An old challenge.*Med Intensiva.* 2018; 43(1):44-46.doi: 10.1016/j.medin.2018.02.009

241. Antonic A, Dottori M, Macleod MR, Donnan GA, Howells DW. NXY-059, a Failed Stroke Neuroprotectant, Offers No Protection to Stem Cell-Derived Human Neurons. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2018; 27(8):2158-2165.doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.03.015

242. Лелевич СВ, Воробьев ВВ, Гриневич ТН. Клиническая лабораторная диагностика: уч.-метод. пособие для студентов лечебного, педиатрического и медикопсихологического факультетов. Гродно: ГрГМУ; 2011. 166 с.

243. Hiebert JB, Shen Q, Thimmesch AR, Pierce JD. Traumatic brain injury and mitochondrial dysfunction.*Am J Med Sci.*2015; 350(2):132-138. doi: 10.1097/MAJ.0000000000000506

244. Jalloh I, Carpentier rKL, Grice P, Howe DJ, Mason A, Gallagher CN, et al. Glycolysis and the pentose phosphate pathway after human traumatic brain injury: microdialysis studies using 1,2-(13)C2 glucose. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2015; 35(1): 111-120. doi: 10.1038/jcbfm.2014.177

245. Ходаківський ОА. Експериментальне дослідження впливу адемолу (сполуки ЮК-1) на коронарну та системну гемодинаміку в умовах наркозу. *Biomedical and biosocial anthropology.* 2011; 16: 7-9.

246. Pangilinan PH, Kishner S, Kelly BM. Classification and Complications of Traumatic Brain Injury. *Medscape: Drugs & Diseases* [Internet]; [updated Jan 6, 2022]. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/326643-overview#a2>

247. Chen T., Dai SH, Jiang ZQ, Luo P, Jiang X-F, Fei Z, et al. The AMPAR Antagonist Perampanel Attenuates Traumatic Brain Injury Through Anti-Oxidative and Anti-Inflammatory Activity. *Cell Mol Neurobiol.* 2017; 37(1): 43-52. doi: 10.1007/s10571-016-0341-8

248. Титова НВ. Мемантин: от оригинального препарата к дженерикам. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2017; 117(10): 136-143.

249. Alluri H, Shaji CA, Davis ML, Tharakan B. A Mouse Controlled Cortical Impact Model of Traumatic Brain Injury for Studying Blood-Brain Barrier Dysfunctions. *Methods Mol Biol.* 2018; 1717: 37-52. doi: 10.1007/978-1-4939-7526-6_4

250. Farahvar A, Gerber LM, Chiu YL, Carney N, Härt IR, Ghajar J. Increased mortality in patients with severe traumatic brain injury treated without intracranial pressure monitoring. *J Neurosurg.* 2012; 117(4): 729-734. doi: 10.3171/2012.7.JNS111816

251. Li W, Bai YA, Li YJ, Liu K-G, Wang M-D, Xu G-Z, et al. Magnesium sulfate for acute traumatic brain injury. *J Craniofac Surg.* 2015; 26(2): 393-398. doi: 10.1097/SCS.0000000000001339

252. Arundine M, Tymianski M. Molecular mechanisms of glutamate-dependent neurodegeneration in ischemia and traumatic brain injury. *Cell Mol Life Sci.* 2004; 61(6): 657-668. doi: 10.1007/s00018-003-3319-x

253. Gu Y, Zhang J, Zhao Y, Su Y, Zhang Y. Potassium Aspartate Attenuates Brain Injury Induced by Controlled Cortical Impact in Rats Through Increasing Adenosine Triphosphate (ATP) Levels, Na⁺/K⁺-ATPase Activity and Reducing Brain Edema. *Med Sci Monit.* 2016; 22: 4894-4901. doi: 10.12659/MSM.898185

254. Kurauchi Y, Kinoshita R, Mori A, Sakamoto K, Nakahara T, Ishii K. MEK/ERK- and calcineurin/NFAT-mediated mechanism of cerebral hyperemia and brain injury following NMDA receptor activation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017; 488(2): 329-334. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.05.043

255. Жиляев СО, Штриголь СЮ. Порівняльний аналіз вплив корвітину та

ліпофлавоноу на показники енергетичного обміну у головному мозку щурів з моделлю тяжкої черепно-мозкової травми. Запоріжський медичний журнал. 2013. 2(77): 21-24.

256. Kalia LV, Kalia SK, Salter MW. NMDA receptors in clinical neurology excitatory times ahead. *Lancet neurol.* 2008; 7(8): 742-755. doi: 10.1016/S1474-4422(08)70165-0

257. Thelin EP, Helmy A, Nelson DW, Marklund N. Editorial: Monitoring Pathophysiology in the Injured Brain. *Front Neurol.* 2018; 9: 193-194. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00193>

258. Ghalaenovi H, Fattahi A, Koohpayehzadeh J, Khodadost M, Fatahi N, Taheri M, et al. The effects of amantadine on traumatic brain injury outcome: a double-blind, randomized, controlled, clinical trial. *Brain Inj.* 2018; 32(8): 1050-1055. doi: 10.1080/02699052.2018.1476733

259. Katzman BM, Perszyk RE, Yuan H, Tahirovic YA, Sotimehin AE, Traynelis SF, et al. Yuan A novel class of negative allosteric modulators of NMDA receptor function. *Bioorg Med Chem Lett.* 2015; 25(23): 5583-5588. doi: 10.1016/j.bmcl.2015.10.046

260. Буреш Я, Бурешова О, Хьюстон Д. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа; 1991. 527 с.

261. Ходаківський ОА, Жабоедова НВ, Рокунець ІЛ, та ін. Додати наступних 3 авторів Порівняльна оцінка впливу адемоу та німодипіну на церебральну гемодинаміку в корі головного мозку за умов експериментального субарахноїдального крововиливу. *Світ медицини та біології.* 2016; 3: 150-153.

262. Bosarge PL, Shoultz TH, Griffin RL, Kerby JD. Stress-induced hyperglycemia is associated with higher mortality in severe traumatic brain injury. *J Trauma Acute Care Surg.* 2015; 79(2): 289-294. doi: 10.1097/TA.0000000000000716

263. Dickerman R, Reynolds A, Williamson J, Winters K. Letter: Guidelines for the Management of Severe Traumatic Brain Injury, Fourth Edition. *Neurosurgery.* 2017;

81(4): 2-50. doi: 10.1093/neuros/nyx308

264. Landucci E, Filippi L, Gerace E, Catarzi S, Guerrini R, Pellegrini-Giampietro DE. Neuroprotective effects of topiramate and memantine in combination with hypothermia in hypoxic-ischemic brain injury in vitro and in vivo. *Neurosci Lett*. 2018; 668: 103-107. doi: 10.1016/j.neulet.2018.01.023

265. Leijenaar JF, Dorhout Mees SM, Algra A, van den Bergh WM, Rinkel GJE. Effect of magnesium treatment and glucose levels on delayed cerebral ischemia in patients with subarachnoid hemorrhage: a substudy of the Magnesium in Aneurysmal Subarachnoid Haemorrhage trial (MASH-II). *Int J Stroke*. 2015; 100: 108-112. doi: 10.1111/ijs.12621

266. Burnell ES, Irvine M, Fang G, Sapkota K, Jane DE, Monaghan DT. Positive and Negative Allosteric Modulators of N-Methyl-d-aspartate(NMDA) Receptors: Structure-Activity Relationships and Mechanisms of Action. *J Med Chem*. 2019; 62(1):3-23. doi: 10.1021/acs.jmedchem.7b01640

267. Clasby B, Hughes N, Catroppa C, Morrison E. Community-based interventions for adolescents following traumatic brain injury: A systematic review. *NeuroRehabilitation*. 2018; 42(3):345-363. doi: 10.3233/NRE-172385

268. Karakas E, Regan MC, Furukawa H. Emerging structural insights into the function of ionotropic glutamate receptors. *Trends Biochem Sci*. 2015; 40(6): 328-337. doi: 10.1016/j.tibs.2015.04.002

269. Liu Z, Zhao W, Xu T, Pei D, Peng Y. Alterations of NMDA receptor subunits NR1, NR2A and NR2B mRNA expression and their relationships to apoptosis following transient forebrain ischemia. *Brain Res*. 2010; 1361:133-9. doi: 10.1016/j.brainres.2010.09.035

270. Ходаковский АА. Церебропротекторные свойства 1-адамантилетилокси-3-морфолино-2-пропанола гидрохлорида (адемола) в восстановительном периоде экспериментального ишемического инсульта. *Медицинский вестник Юга России*. 2013; 1: 80-85.

271. Наказ МОЗ України від 15.01.2014. №34 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації екстреної медичної допомоги». Уніфікований клінічний протокол екстреної медичної допомоги «Черепно-мозкова травма». Доступно: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20140115_0034.html

272. Никандров ВН, БалашевичТВ. Рецепторы глицина в нервной ткани и их функциональная роль. Биомедицинская химия. 2014; 4: 403-415.

273. Mondello S, Thelin EP, Shaw G, Salzet M, Visalli C, Cizkova D, et al. Extracellular vesicles: pathogenetic, diagnostic and therapeutic value in traumatic brain injury. Expert Rev Proteomics. 2018; 19: 450-458. doi: 10.1080/14789450.2018.1464914

274. Беленичев ИФ, БухтияроваНВ, Середа ДА. Современные подходы к терапии острого нарушения мозгового кровообращения, основные стратегии нейропротекции.Новости медицины и фармации. 2008; 5(237): 1-7.

275. Stein DG, Sayeed I. Repurposing and repositioning neurosteroids in the treatment of traumatic brain injury: A report from the trenches. Neuropharmacology. 2018; 147:66-73. 161-168.doi: 10.1016/j.neuropharm.2018.04.006

276. Ozturk AM, Sozbilen MC, Sevgili E, Dagci T, Ozyalcin H, Armagan G. Epidermal growth factor regulates apoptosis and oxidative stress in a rat model of spinal cord injury. Injury. 2018; 83(18): 133-135.doi: 10.1016/j.injury.2018.03.021

277. Sriram K, O'Callaghan JP. Divergent roles for tumor necrosis factor- α in the brain.JNIP. 2007; 2(2): 140-153.doi: 10.1007/s11481-007-9070-6

278. Lees KR, Asplund K, Carolei A, Davis SM, Diener HC, Kaste M, [et al.] Glycine antagonist (gavestinel) in neuroprotection (GAIN International) in patients with acute stroke: a randomised controlled trial. GAIN International Investigators. Lancet. 2000; 355(9219):1949-54.doi: 10.1016/s0140-6736(00)02326-6

279. Ходаківський ОА. Патогенетичне обґрунтування доцільності використання нових похідних адамантану при експериментальній терапії гострої

ішемії головного мозку та міокарда (експериментальне дослідження) [дисертація]. Одеса; 2014. 24 с.

280. Elkon B, Cambrin JR, Hirshberg E, Bratton SL. Hyperglycemia: an independent risk factor for poor outcome in children with traumatic brain injury. *Pediatr Crit Care Med*. 2014; 15(7): 623-631.doi: 10.1097/PCC.0000000000000170

281. Чекман ИС, Губский ЮИ, Громов ЛА, Беленичев ИФ. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов. *Метод. рекомендации*. К.; 2010. 81 с.

282. Семененко СІ. Дослідження церебропротекторної ефективності адемолу та магнію сульфату на експериментальній моделі черепно-мозкової травми. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2019; 18(3): 63–69. DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XVIII.3.69.2019.11>

283. Long B, Kozyfman A. Secondary Gains: Advances in Neurotrauma Management. *Emerg Med Clin. North Am*. 2018; 36(1): 107-133. doi: 10.1016/j.emc.2017.08.007

284. Lyons MWH, Blackshaw WJ. Does magnesium sulfate have a role in the management of severe traumatic brain injury in civilian and military populations? A systematic review and meta-analysis. *J R Army Med Corps*. 2018; 164(6):442-449. doi: 10.1136/jramc-2018-000916.

285. Presneill J, Gantner D, Nichol A, McArthur C, Forbes A, Kasza J, et al. Statistical analysis plan for the POLAR-RCT: The Prophylactic hypOthermia trial to Lessen trAumatic bRain injury-Randomised Controlled Trial. *Trials*. 2018; 19(1): 250-259.doi: 10.1186/s13063-018-2610-y

286. Clerc P, Young CA, Bordt EA, Grigore AM, Fiskum G, Polster BM, et al. Magnesium sulfate protects against the bioenergetic consequences of chronic glutamate receptor stimulation. *PLoS One*. 2013;8(11): 79-98.doi: 10.1371/journal.pone.0079982

287. Dong T, Zhi L, Bhayana B, Wu MX. Cortisol-induced immune suppression by a blockade of lymphocyte egress in traumatic brain injury. *J Neuroinflammation*.

2016;13(1): 197-198.doi: 10.1186/s12974-016-0663-y

288. Loane DJ, Faden AI. Neuroprotection for traumatic brain injury: translational challenges and emerging therapeutic strategies. *Trends Pharmacol Sci.* 2010; 31(12): 596-604.doi: 10.1016/j.tips.2010.09.005

289. Mehta A, Prabhakar M, Kumar P, Deshmukh R, Sharma PL. Excitotoxicity: Bridge to various triggers in neurodegenerative disorders. *European Journal of Pharmacology.* 2013; 698(1-3): 6-18.doi: 10.1016/j.ejphar.2012.10.032

290. Di Pietro V, Lazzarino G, Amorini AM, Tavazzi B, D'Urso S, Longo S, et al. Neuroglobin expression and oxidant/antioxidant balance after graded traumatic brain injury in the rat. *Free Radic Biol Med.* 2014; 69: 258-264. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.01.032

291. Gong G, Yin L, Yuan L, Sui D, Sun Y, Fu H, et al. Ganglioside GM1 protects against high altitude cerebral edema in rats by suppressing the oxidative stress and inflammatory response via the PI3K/AKT-Nrf2 pathway. *Mol Immunol.* 2018; 95: 91-98.doi: 10.1016/j.molimm.2018.02.001

292. Семененко СІ, Семененко АІ, Семененко ОМ. Дослідження впливу амантадину сульфату на динаміку нейроапоптозу при експериментальній черепно-мозковій травмі. *Медицина невідкладних станів.* 2019; 7(102): 6–10. doi: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0586.7.102.2019.180352>

293. Laaper M, Haque T, Slack RS, Jahani-Asl A. Modeling Neuronal Death and Degeneration in Mouse Primary Cerebellar Granule Neurons. *J Vis Exp.* 2017; 129: 55871.doi: 10.3791/55871

294. Бояринов ГА, Бояринова ЛВ, Дерюгина АВ, Зайцев РР, Соловьева ОД, Яковлева ЕИ. Фармакологическая коррекция изменений сосудисто-тромбоцитарного гемостаза при черепно-мозговой травме. *Медицинский альманах.* 2016; 4(41): 139-144.

295. Садулаева АШ, Лысенко КИ, Стулин ИД, Паневин АИ. Предикторы отдаленных исходов сочетанной черепно-мозговой травмы. *Журнал неврологии и*

психиатрии им. С.С. Корсакова. 2018; 118(3): 15-17.

296. Шанько ЮГ, Нечипуренко НИ, Наледько АН, Щербина НЮ, Комликов СЮ, Матусевич ЛИ. Нейропротективная терапия в остром периоде черепно-мозговой травмы. Вести НАН Беларуси: серия мед. наук. 2014; 3: 52-56.

297. Nixon RA. The role of autophagy in neurodegenerative disease. *Nat Med*. 2013;19(8): 983-997.doi: 10.1038/nm.3232

298. Alali AS, Fowler RA, Mainprize TG, Scales DC, Kiss A, de Mestral C, et al. Intracranial pressure monitoring in severe traumatic brain injury: results from the American College of Surgeons Trauma Quality Improvement Program. *J Neurotrauma*. 2013; 30(20): 1737-1746.doi: 10.1089/neu.2012.2802

299. Li M, Sirko S. Traumatic Brain Injury: At the Crossroads of Neuropathology and Common Metabolic Endocrinopathies. *J Clin Med*. 2018; 7(3): 59-61.doi: 10.3390/jcm7030059

300. Kumaria A. In vitro models as a platform to investigate traumatic brain injury. *Altern Lab Anim*. 2017; 45(4): 201-211.doi: 10.1177/026119291704500405

301. Семененко СІ, Хребтій НІ, Семененко АІ. Церебропротекторні властивості адемоу при черепно-мозкових травмах. Буковинський медичний вісник. 2020; 24(2): 159–166.

302. Li C, Karmarkar A, Adhikari D, Ottenbacher K, Kuo Y-F. Effects of Age and Sex on Hospital Readmission in Traumatic Brain Injury. *Arch Phys Med Rehabil*. 2018; 17: 1466-1471.doi: 10.1016/j.apmr.2017.12.006

303. Hammond FM, Sherer M, Malec JF, Zafonte RD, Whitney M, Bell K, et al. Amantadine Effect on Perceptions of Irritability after Traumatic Brain Injury: Results of the Amantadine Irritability Multisite Study. *J Neurotrauma*. 2015; 32(16): 1230-1238.doi: 10.1089/neu.2014.3803

304. Mazzeo AT, Gupta DK. Monitoring the injured brain. *J Neurosurg Sci*. 2018; 62(5):549-562. doi: 10.23736/S0390-5616.18.04465-X

305. Chesnut RM, Temkin N, Carney N, Dikmen S, Rondina C, Videtta W, et al.

A trial of intracranial pressure monitoring in traumatic brain injury. *N Engl J Med.* 2012; 367(26): 2471-2481. doi: 10.1056/NEJMoa1207363

306. Sun J, Lin H, He G, Lin W, Yang J. Magnesium sulphate attenuate remifentanyl-induced postoperative hyperalgesia via regulating tyrosine phosphorylation of the NR₂B subunit of the NMDA receptor in the spinal cord. *BMC Anesthesiol.* 2017; 17(1): 30-38. doi: 10.1186/s12871-017-0325-3

307. Majdan M, Mauritz W, Wilbacher I, Brazinova A, Rusnak M, Leitgeb J. Barbiturates use and its effects in patients with severe traumatic brain injury in five European countries. *J Neurotrauma.* 2013; 30(1): 23-29. doi: 10.1089/neu.2012.2554

308. Liu D, Chen J, Jiang T, Li W, Huang Y, Lu X. Biodegradable Spheres Protect Traumatically Injured Spinal Cord by Alleviating the Glutamate-Induced Excitotoxicity. *Adv Mater.* 2018; 14: 706-732. doi: 10.1002/adma.201706032

309. Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES, Baehrecke E H, et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death Differ.* 2009; 1(16): 3-11. <https://doi.org/10.1038/cdd.2008.150>

310. Хабриев РУ, редактор. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-е изд. перераб. и доп. М.: ОАО «Изд-во «Медицина»; 2005. 832 с.

311. Крылов ВВ, Талыпов АЭ, Пурас ЮВ, Ефременко СВ. Вторичные факторы повреждений головного мозга при черепно-мозговой травме. *Российский медицинский журнал.* 2009; 3: 23-28.

312. Abboud A, Mi Q, Puccio A, Okonkwo D, Buliga M, Constantine G, et al. Inflammation following traumatic brain injury in humans: insights from data-driven and mechanistic models into survival and death. *Front Pharmacol.* 2016; 7: 342-344. doi: 10.3389/fphar.2016.00342

313. Shih RY, Burns J, Ajam AA, Broder JS, Chakraborty S, Kendi AT, Lacy ME, Ledbetter LN, Lee RK, Liebeskind DS, Pollock JM, Prall JA, Ptak T, Raksin PB,

Shaines MD, Tsiouris AJ, Utukuri PS, Wang LL, Corey AS. Expert Panel on Neurological Imaging. ACR Appropriateness Criteria® Head Trauma: 2021 Update. *J Am Coll Radiol*. 2021 May;18(5S):S13-S36. doi: 10.1016/j.jacr.2021.01.006. PMID: 33958108.

314. Gonda X. Basic pharmacology of NMDA receptors. *Curr Pharm Des*. 2012; 18(12):1558-1567. doi: 10.2174/138161212799958521

315. JassamYN, IzzyS, Whalen M, McGavernDB, El Khoury J. Neuroimmunology of Traumatic Brain Injury: Time for a Paradigm Shift. *Neuron*. 2017; 95(6): 1246-1265. doi: 10.1016/j.neuron.2017.07.010

316. Лапач СН, Чубенко АВ, Бабич ПН. Статистика в науке и бизнесе: практическое руководство. К.: Морион; 2002. 640 с.

317. Ходаківський ОА. Порівняльна оцінка впливу похідних адамантану сполук ЮК-1 та ЮК-4 на активність NMDA-рецепторів. *Клінічна фармація*. 2011; 15(4): 60-63.

318. Kochanek PM, Bramlett HM, Dixon CE, Dietrich WD, Mondello S, Wang KKW, et al. Operation Brain Trauma Therapy: 2016 Update. *Mil Med*. 2018; 183(1): 303-312. <https://doi.org/10.1093/milmed/usx184>

319. Muballe DK, Longo-Mbenza, Rusike CS. Oxidative Stress and Inflammatory Response in Traumatic Brain Injury: A Technical Review. *Journal of Innovation and Research in Health Sciences and Biotechnology (South Africa)*. 2016; 1(3): 99-112.

320. Osteen CL, Giza CC, Hovda DA. Injury-induced alterations in N-methyl-D-aspartate receptor subunit composition contribute to prolonged 45 calcium accumulation following lateral fluid percussion. *Neuroscience*. 2004; 128(2): 305-322. doi: 10.1016/j.neuroscience.2004.06.034

321. Зябліцев СВ, Стародубська ОО. Стан нейро-гормональних систем при черепно-мозковій травмі та вплив на нього карбацетаму. *Патологія*. 2017; 1(39): 95-99. DOI: <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2017.1.97502>

322. Evans LP, Newell EA, Mahajan M, Mahajan M-A, Tsang SH, Ferguson PJ, et al. Acute vitreoretinal trauma and inflammation after traumatic brain injury in mice. *Ann Clin Transl Neurol.* 2018; 5(3):240-251.doi: 10.1002/acn3.523

323. Hou G, Zhang ZW. NMDA Receptors Regulate the Development of Neuronal Intrinsic Excitability through Cell-Autonomous Mechanisms.*Front Cell Neurosci.* 2017; 11: 353-354.doi: 10.3389/fncel.2017.00353

324. Preuss M. An energy-failure based brain edema concept.*Med Hypotheses.* 2012;79(2): 259-260.doi: 10.1016/j.mehy.2012.05.003

325. Shohami E, Biegon A. Novel approach to the role of NMDA receptors in traumatic brain injury. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2014; 13(4): 567-573.doi: 10.2174/18715273113126660196

326. Hill CS, Coleman MP, Menon DK. Traumatic axonal injury: mechanisms and translational opportunities. *Trends Neurosci.* 2016; 39(5): 311-324. doi: 10.1016/j.tins.2016.03.002

327. Семененко СІ. Порівняльний вплив адемолу, амантадину сульфату, магнію сульфату на неврологічний дефіцит та мнестичні функції у щурів із моделлю черепно-мозкової травми. *Буковинський медичний вісник.* 2019; 23(4): 108–115. DOI: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXIII.4.92.2019.97>

328. Hübe IN, Hosseini-Zare MS, ŽiburkusJ, Ullah G. The role of glutamate in neuronal ion homeostasis: A case study of spreading depolarization. *PLoS Comput Biol.* 2017; 13(10): 5804-5805.doi: 10.1371/journal.pcbi.1005804

329. Chiu CC, Liao YE, Yang LY, Wang JY, Tweedie D, Karnati HK,et al. Neuroinflammation in animal models of traumatic brain injury. *J Neurosci Methods.* 2016; 272: 38-49.doi: 10.1016/j.jneumeth.2016.06.018

330. Hu S, Hu H, Mak S, Cui G, Lee M, Shan L, et al. A Novel Tetramethylpyrazine Derivative Prophylactically Protects against Glutamate-Induced Excitotoxicity in Primary Neurons through the Blockage of N-Methyl-D-aspartate Receptor.*Front Pharmacol.* 2018; 9:73-80. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00073>

331. Depp C, Bas-Orth C, Schroeder L, Hellwig A, Bading H. Synaptic Activity Protects Neurons Against Calcium-Mediated Oxidation and Contraction of Mitochondria During Excitotoxicity. *Antioxid Redox Signal*. 2018; 29(12):1109-1124.doi: 10.1089/ars.2017.7092

332. Gyoneva S, Orr AG, Traynelis SF. Differential regulation of microglial motility by ATP/ADP and adenosine. *Parkinsonism Relat Disord*. 2009; 15(3): 195-199.doi: 10.1016/S1353-8020(09)70813-2

333. Ekeke ON, Okonta KE. Trauma: a major cause of death among surgical inpatients of a Nigerian tertiary hospital. *Pan Afr Med J*. 2017; 5(28): 6-8.doi: 10.11604/pamj.2017.28.6.10690

334. Juengst SB, Kumar RG, Arentz PM, Wagner AK. Exploratory associations with Tumor Necrosis Factor-alpha, disinhibition and suicidal endorsement after traumatic brain injury. *Wagner Brain Behav Immun*. 2014; 41(1): 134-143. doi: 10.1016/j.bbi.2014.05.020

335. Vujovic KS, Vuckovic S, Durovic A, Knežević N, Prostran M. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase attenuate the hypothermic effect of ketamine-magnesium sulfate combination in rats. *J Therm Biol*. 2018; 74: 1-5.doi: 10.1016/j.jtherbio.2018.02.013

336. Бовт ЮВ, Кас ЮВ, Коршняк ВО, Сухоруков ВІ. Клінічні та патофізіологічні особливості гострої закритої черепно-мозкової травми, отриманої внаслідок вибухової хвилі. *Український журнал "Чоловіче здоров'я, гендерна та психосоматична медицина"*. 2016; 2(04): 12-18.Доступно: http://nbuv.gov.ua/UJRN/mhgpsmuj_2016_2_4

337. George N, Geller HM. Extracellular matrix and traumatic brain injury. *J Neurosci Res*. 2018; 96(4): 573-588.doi: 10.1002/jnr.24151

338. Лапач СН, Чубенко АВ, Бабич ПН. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel.К.: МОРИОН; 2000. 320 с.

339. Moraes JB, Maes M, Roomruangwong C, Bonifacio KL, Barbosa DS,

Vargas HO, et al. In major affective disorders, early life trauma predict increased nitro-oxidative stress, lipid peroxidation and protein oxidation and recurrence of major affective disorders, suicidal behaviors and a lowered quality of life. *Metab Brain Dis.* 2018; 33(4):1081-1096. doi: 10.1007/s11011-018-0209-3

340. Schnakers C, Monti MM. Disorders of consciousness after severe brain injury: therapeutic options. *Curr Opin Neurol.* 2017; 30(6): 573-579. doi: 10.1097/WCO.0000000000000495

341. Yu A, Lau AY. Glutamate and Glycine Binding to the NMDA Receptor. *Structure.* 2018; 26(7): 1035-1043.e2. doi: 10.1016/j.str.2018.05.004

342. Раимкулова КБ. Патогенез черепно-мозговой травмы и их влияние на последствия и механизмы их декомпенсации (обзор литературы). *Вестник КазНМУ.* 2014; 2(1): 192-198.

343. Arango MF, Bainbridge D. Magnesium for acute traumatic brain injury. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008; 4: 5400-5408. doi: 10.1002/14651858.CD005400.pub3

344. Chan CY, Sun HS, Shah SM, Agovic MS, Ho I, Friedman E, et al. Direct interaction of taurine with the NMDA glutamate receptor subtype via multiple mechanisms. *Adv Exp Med Biol.* 2013; 775: 45-52. doi: 10.1007/978-1-4614-6130-2_4

345. Chiu LS, Anderton RS, Cross JL, Clark VW, Edwards AB, Knuckey NW et al. Assessment of R18, COG1410, and APP96-110 in Excitotoxicity and Traumatic Brain Injury. *Transl Neurosci.* 2017; 8:147-157. doi: 10.1515/tnsci-2017-0021

346. Meythaler JM, Brunner RC, Johnson A, Novack TA. Amantadine to improve neurorecovery in traumatic brain injury-associated diffuse axonal injury: a pilot double-blind randomized trial. *J. Head Trauma Rehabil.* 2002; 17(4): 300-313. doi: 10.1097/00001199-200208000-00004

347. Onose G, Daia-Chendreanu C, Haras M, Ciurea AV, Angheliescu A. Traumatic brain injury: Current endeavours and trends for neuroprotection and related recovery. *Romanian Neurosurgery.* 2011; 1: 11-30.

348. Никонов ВВ, Савицкая ИБ. Роль антагонистов глутаматных рецепторов (ПК-Мерц) в лечении повреждений мозга. Медицина неотложных состояний. 2012; 5(44): 36-39.

349. Овсянников ДМ, Чехонацкий АА, Колесов ВН, Бубашвили АИ. Социальные и эпидемиологические аспекты черепно-мозговой травмы (обзор). Саратовский научно-медицинский журнал. 2012; 3: 777-785.

350. Akki R., Siracusa R., Morabito R, Remigante A, Campolo M, Errami M, et al. Neuronal-like differentiated SH-SY5Y cells adaptation to a mild and transient H₂ O₂-induced oxidative stress. Cell Biochem Funct. 2018; 36(2): 56-64. doi: 10.1002/cbf.3317

351. Dash PK, Orsi SA, Zhang M, Grill RJ, Pati S, Zhao J, et al. Valproate Administered after Traumatic Brain Injury Provides Neuroprotection and Improves Cognitive Function in Rats. PLoS ONE. 2010; 5(6): 113-183. doi: 10.1371/journal.pone.0011383

352. Gardner RC, Dams-O'Connor K, Morrissey MR, Manley GT. Geriatric Traumatic Brain Injury: Epidemiology, Outcomes, Knowledge Gaps, and Future Directions. J Neurotrauma. 2018; 35(7):889-906. doi: 10.1089/neu.2017.5371

353. Hermanides J, Plummer MP, Finnis M, Deane AM, Coles JP, Menon DK. Glycaemic control targets after traumatic brain injury: a systematic review and meta-analysis. Crit Care. 2018; 22(1). 11-18. doi: 10.1186/s13054-017-1883-y

354. Long JD, Liu Y, Jiao DL, Wang Y-J, Zan G-Y, Ju Y-Y, et al. The neuroprotective effect of memantine on methamphetamine-induced cognitive deficits. Behav Brain Res. 2017; 323: 133-140. doi: 10.1016/j.bbr.2017.01.042

355. Ходаківський ОА, Степанюк ГІ, Короткий ЮВ, Лозинський МО. Скринінг церебропротекторного ефекту серед нових похідних адамантану в умовах експериментальної ішемії головного мозку. Фармакологія та лікар. токсикологія. 2010; 3(16): 8-11.

356. Banoei MM, Casault C, Metwaly SM, Winston BW. Metabolomics and biomarker discovery in Traumatic Brain Injury. J Neurotrauma. 2018; 35(16):1831-

1848. doi: 10.1089/neu.2017.5326

357. Fehlings MG, Nakashima H, Nagoshi N, Chow DSL, Grossman RG, Kopjar B. Rationale, design and critical end points for the Riluzole in Acute Spinal Cord Injury Study (RISCIS): a randomized, double-blinded, placebo-controlled parallel multi-center trial. *Spinal Cord*. 2016; 54(1): 8-15. doi: 10.1038/sc.2015.95

358. Khodakovskiy OA, Khodakovskiy AY. Corrective influence of ademol on metabolism of nitrogen monoxide in the brain of the rats with modeling cerebral ischemia. *Буковинський медичний вісник*. 2014; 18, 1(69): 134-138.

359. Потапов АА, Крылов ВВ, Гаврилов АГ, и др. Рекомендации по диагностике и лечению тяжелой черепно-мозговой травмы. *Вопросы нейрохирургии*. 2015; 6: 10-16.

360. Iaccarino MA, Philpotts LL, Zafonte R, Biederman J. Stimulant Use in the Management of Mild Traumatic Brain Injury: A Qualitative Literature Review. *J Atten Disord*. 2018; 24(2):309-317. doi: 10.1177/1087054718759752

361. Hinzman JM, Wilson JA, Mazzeo AT, Bullock MR, Hartings JA. Excitotoxicity and Metabolic Crisis Are Associated with Spreading Depolarizations in Severe Traumatic Brain Injury Patients. *Journal of Neurotrauma*. 2016; 33(19): 1775-1783. doi: 10.1089/neu.2015.4226

362. Majdan M., Plancikova D., Brazinova A, Rusnak M, Nieboer D, Feigin V, et al. Epidemiology of traumatic brain injuries in Europe: a cross-sectional analysis. *Lancet Public Health*. 2016; 1(2): 76-83. doi: 10.1016/S2468-2667(16)30017-2

363. Ikonomidou C, Turski L. Why did NMDA receptor antagonists fail clinical trials for stroke and traumatic brain injury? *Lancet Neurol*. 2002; 1(6): 383-386. doi: 10.1016/s1474-4422(02)00164-3

364. Marwick KM, Parker P, Skehel P, Hardingham G, Wyllie DJA. Functional assessment of the NMDA receptor variant GluN2A R586K. *Wellcome Open Res*. 2017; 2: 20-28. doi: 10.12688/wellcomeopenres.10985.2

365. Yan J, Jiang H. Dual effects of ketamine: neurotoxicity versus

neuroprotection in anesthesia for the developing brain. *J Neurosurg Anesthesiol.* 2014; 26(2): 155-160.doi: 10.1097/ANA.0000000000000027

366. Robertson CS, Hannay HJ, Yamal JM, Gopinath S, Goodman JC, Tilley BC, et al. Effect of Erythropoietin and Transfusion Threshold on Neurological Recovery after Traumatic Brain Injury: a Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2014;312(1): 36-47.doi: 10.1001/jama.2014.6490

367. Scudday T, Brasel K, Webb T, Codner P, Somberg L, Weigelt J, et al. Safety and efficacy of prophylactic anticoagulation in patients with traumatic brain injury. *J Am Coll Surg.* 2011; 213(1): 148-154.doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2011.02.027

368. Deiana S, Watanabe A, Yamasaki Y, Amada N, Kikuchi T, Stott C, et al. MK-801-induced deficits in social recognition in rats: reversal by aripiprazole, but not olanzapine, risperidone, or cannabidiol. *Behav Pharmacol.* 2015; 26(8): 748-765.doi: 10.1097/FBP.0000000000000178

369. Siahposht-Khachaki A, Ezzatpanah S, Razavi Y, Haghparast A. NMDA receptor dependent changes in c-fos and p-CREB signaling following extinction and reinstatement of morphine place preference. *Neurosci Lett.* 2018; 662: 147-151.doi: 10.1016/j.neulet.2017.10.028

370. Szydlowska K, Tymianski M. Calcium, ischemia and excitotoxicity. *Cell Calcium.* 2010; 47(2): 122-129.doi: 10.1016/j.ceca.2010.01.003

371. Hammond NE, Taylor C, Finfer S, Machado FR, An YZ, Billot L, et al. Patterns of intravenous fluid resuscitation use in adult intensive care patients between 2007 and 2014: An international cross-sectional study. *PLoS One.* 2017; 12(5): 1762-1792.doi: 10.1371/journal.pone.0176292

372. Muresanu DF. Neuroprotection and neuroplastic – the integrated approach and prospects. *Journal of the Neurological Sciences.* 2007; 257(1-9): 38-43.doi: 10.1016/j.jns.2007.01.041

373. Young JM, Hoane MR. Magnesium administration after experimental traumatic brain injury improves decision-making skills. *Brain Res Bull.* 2018; 139: 182-

189.doi: 10.1016/j.brainresbull.2018.02.019

374. Börgel F, Szymerski M, Schreiber JA, Temme L, Strutz-Seebohm N, Lehmkuhl K, et al. Synthesis and pharmacological evaluation of enantiomerically pure GluN2B selective NMDA receptor antagonists. *ChemMedChem*. 2018; 13(15):1580-1587.doi: 10.1002/cmdc.201800214

375. Alves JL. Blood-brain barrier and traumatic brain injury. *J Neurosci Res*. 2014; 92(2):141-147. doi: 10.1002/jnr.23300

376. Gramish JA, Kopp BJ, Patanwala AE. Effect of Amantadine on Agitation in Critically Ill Patients With Traumatic Brain Injury. *Clin Neuropharmacol*. 2017; 40(5): 212-216.doi: 10.1097/WNF.0000000000000242

377. Bacqué MC, Barone ME, Yankowski A, Antik A, Trunzo L, Fioretti S, et al. Neurocritical Patient Characteristics Related to Brain Death. *Transplant Proc*. 2018;50(2): 397-399. doi: 10.1016/j.transproceed.2017.11.074

378. Feng Y, Kumar P, Wang J, Bhatt AJ. Dexamethasone but not the equivalent doses of hydrocortisone induces neurotoxicity in neonatal rat brain. *Pediatr Res*. 2015; 77(5): 618-624.<https://doi.org/10.1038/pr.2015.19>

379. Бояринов ГА, Дерюгина АВ, Зайцев РР, Бояринова ЛВ, Яковлева ЕИ, Соловьева ОД, и др. Роль вторичных факторов повреждения мозга в активации сосудисто-тромбоцитарного гемостаза при черепно-мозговой травме. *Общая реаниматология*. 2016; 5(12): 42-51.

380. Ходаківський ОА, Черешнюк ІЛ. Дослідження впливу похідного адамантану адемола на фрагментацію ДНК ядер нейронів лобних часток кори за ішемії-реперфузії головного мозку у щурів. *Український вісник психоневрології*. 2013; 21(1(74)): 26-28.

381. Wang K, Cui D, Gao L. Traumatic brain injury: a review of characteristics, molecular basis and management. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2016; 21(5):890-899.doi: 10.2741/4426

382. Ebbesen CL, Brecht M. Motor cortex-to act or no to act? *Nat Rev*. 2017;

18(11): 694-705.doi: 10.1038/nrn.2017.119

383. Hammad A, Westacott L, Zaben M. The role of the complement system in traumatic brain injury: a review. *J Neuroinflammation*. 2018; 15(1): 24-26.doi: 10.1186/s12974-018-1066-z

384. Petralia RS, Wang YX, Hua F, Yi Z, Zhou A, Ge L, et al. Organization of NMDA receptors at extrasynaptic location. *Neuroscience*. 2010; 167(1): 68-87.doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.01.022

385. PoddarR, Chen A, Winter L, Rajagopal S, Paul S. Role of AMPA receptors in homocysteine-NMDA receptor-induced crosstalk between ERK and p38 MAPK. *J Neurochem*. 2017;142(4): 560-573.doi: 10.1111/jnc.14078

386. Gibb A, Ogden KK, McDaniel MJ, Vance KM, Kell S A, Butch C,et al.A structurallyderived model of subunit-dependent NMDA receptor function. *J Physiol*. 2018; 596(17):4057-4089.doi: 10.1113/JP276093

387. Echeverry R, Wu F, Haile WB, Wu J, Yepes M. The cytokine tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis and its receptor fibroblast growth factor-inducible 14 have a neuroprotective effect in the central nervous system. *J Neuroinflammation*. 2012; 9: 45-52.<https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-45>

388. Епифанцева НН, Борщикова ТИ, Чурляев ЮА,Ситников ПГ, Никифорова НВ, Екимовских АВ, Херингсон ЛГ.Интегральная оценка оксидантно-антиоксидантного статуса у больных в отделении нейрореанимации.Клиническая лабораторная диагностика. 2013; 11: 31-35.

389. Поліщук МЄ. Нейротравматологія – актуальна складова науки про травму.Журнал НАМН України.2014; 20(3): 312-316. Доступно: http://nbuv.gov.ua/UJRN/jnamnu_2014_20_3_8

390. Giza CC, Maria NS, Hovda DA. N-methyl-d-aspartate receptor subunit changes after traumatic injury to the developing brain.*J Neurotrauma*. 2006; 6: 950-961. doi: 10.1089/neu.2006.23.950

391. Peffer J, McLaughlin C. The correlation of early hyperglycemia with

outcomes in adult trauma patients: a systematic review. *J Spec Oper Med.* 2013; 13(4): 34-39. doi: 10.55460/LDC8-73C0

392. Загорій ГВ, Ходаківський ОА, винахідники; Загорій ГВ, патентовласник. Фармацевтична композиція 1-адамантилетокси-3-діетиламіно-2-пропанол гідрохлорид або його фармацевтично прийнятних солей для створення лікарських засобів для лікування кардіоваскулярної патології. Патент на винахід України №105475, МПК (2014.01) C07C 13/615. 2013 Квіт 10.

393. Семененко С. Особливості морфологічних змін у структурах головного мозку щурів в умовах модельної черепно-мозкової травми. *Клінічна та експериментальна патологія.* 2021; 20(2): 73–79. DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XX.2.76.2021.11>

394. Flierl MA, Stahel PF, Beauchamp KM, Morgan SJ, Smith WR, Shohami E. Mouse closed head injury model induced by a weight-drop device. *Nat Protoc.* 2009; 4(9): 1328-1337. doi: 10.1038/nprot.2009.148

395. Orczyk JJ, Garraghty PE. The effects of felbamate on appetitive and aversive instrumental learning in adult rats. *Epilepsy Behav.* 2018; 78: 14-19. doi: 10.1016/j.yebeh.2017.10.022

396. Rothman SM, Olney JW. Glutamate and the pathophysiology of hypoxicischemic brain damage. *Ann. Neurol.* 1986; 19(2): 105-111. doi: 10.1002/ana.410190202

397. Petraglia AL, Dashnaw ML, Turner RC, Bailes JE. Models of mild traumatic brain injury: translation of physiological and anatomic injury. *Neurosurgery.* 2014; 75(4):34-49. doi: 10.1227/NEU.0000000000000472

398. Семененко СІ. Вплив адемоу на формування стероїдної нейротоксичності за рівнем кортизолу в умовах модельної черепно-мозкової травми. *Клінічна та експериментальна патологія.* 2020; 19(1): 85–90. DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XIX.1.71.2020.13>

399. Hall ED, Vaishnav RA, Mustafa AG. Antioxidant therapies for traumatic

brain injury. *Neurotherapeutics*. 2010; 7(1): 51-61. doi: 10.1016/j.nurt.2009.10.021

400. Gan'shina TS, Kim GA, Gnezdilova AV, Kurdiumov IN, Mirzoian RS. Effect of S-amlodipine nicotinate on the cerebral circulation in rats under conditions of ischemic and hemorrhagic brain injury. *Eksp Klin Farmakol*. 2014; 77(9):3-7.

401. Davanzo JR, Sieg EP, Timmons SD. Management of Traumatic Brain Injury. *Surg Clin North Am*. 2017; 97(6): 1237-1253. doi: 10.1016/j.suc.2017.08.001

402. Семененко СІ, Семененко АІ, Редькін РГ, Семененко ІФ. Оцінка молекулярної мішені адемолу методом хемоінформатики. *Медицина невідкладних станів*. 2021; 17(7): 37–41.

403. Семененко СІ, Семененко АІ, Поліщук СС, Вознюк ЛА, Семененко ІФ. Вплив адемолу на рівень фактора некрозу пухлини α у головному мозку щурів з модельним травматичним ураженням мозку. *Медицина невідкладних станів*. 2020; 16(4): 121–124. DOI: 10.22141/2224-0586.16.4.2020.207941

404. Семененко СІ. Порівняльний вплив адемолу, амантадину сульфату, магнію сульфату на неврологічний дефіцит та мнестичні функції у щурів із моделлю черепно-мозкової травми. *Österreichisches Multiscience Journal*. 2019; 1(19): 37–42.

405. Maneshi MM, Maki B, Gnanasambandam R, Belin S, Popescu GK, Sachs F, et al. Mechanical stress activates NMDA receptors in the absence of agonists. *Sci Rep*. 2017; 3(7): 3961-3970. doi: 10.1038/srep39610

406. Trimmel H, Majdan M, Wodak A, Herzer G, Csomor D, Brazinova A. Citicoline in severe traumatic brain injury: indications for improved outcome: A retrospective matched pair analysis from 14 Austrian trauma centers. *Wien Klin Wochenschr*. 2018; 130(1-2): 37-44. doi: 10.1007/s00508-017-1240-9

407. Chen X, Zhao Z, Chai Y, Luo L, Jiang R, Zhang J. The incidence of critical-illness-related-corticosteroidinsufficiency is associated with severity of traumatic brain injury in adult rats. *J Neurol Sci*. 2014; 342(1): 93-100. doi: 10.1016/j.jns.2014.04.032

408. Souza CDS, Grangeiro MS, Lima Pereira EP, Santos CCD, da Silva AB, Sampaio GP, et al. Agathisflavone, a flavonoid derived from *Poincianella pyramidalis* (Tul.), enhances neuronal population and protects against glutamate excitotoxicity. *Neurotoxicology*. 2018; 65:85-97.doi: 10.1016/j.neuro.2018.02.001

409. Brenner M., Stein DM, Hu PF, Aarabi B, Sheth K,Scalea TM. Traditional systolic blood pressure targets underestimate hypotension-induced secondary brain injury. *J Trauma Acute Care Surg*. 2012; 72(5): 1135-1139.doi: 10.1097/TA.0b013e31824af90b

410. Ramesh VJ, Chakrabarti D. Letter: Guidelines for the Management of Severe Traumatic Brain Injury, Fourth Edition. *Neurosurgery*. 2018; 82(5): 143-144.DOI:10.1093/neuros/nyy029

411. Degan D, Ornello R, Tiseo C, Carolei A,Sacco S, Pistoia F. The role of inflammation in neurological disorders. *Curr Pharm Des*. 2018; 24(14):1485-1501.doi: 10.2174/1381612824666180327170632

412. Sen AP, Gulati A. Use of magnesium in traumatic brain injury. *Neurotherapeutics*. 2010; 7(1): 91-99.doi: 10.1016/j.nurt.2009.10.014

413. Shannon RJ, van der Heide S, Carter EL, Jalloh I, Menon DK, Hutchinson PJ, et al. Extracellular N-acetylaspartate in human traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2016; 33(4): 319-329. doi: 10.1089/neu.2015.3950

414. Yates NJ, Lydiard S, Fehily B, Weir G, Chin A, Bartlett CA, et al. Repeated mild traumatic brain injury in female rats increases lipid peroxidation in neurons. *Exp Brain Res*. 2017; 235(7): 2133-2149.doi: 10.1007/s00221-017-4958-8

415. WangCC, WeeHY, Hu CY, ChioC-C, KuoJ-R.The Effects of Memantine on Glutamic Receptor-Associated Nitrosative Stress in a Traumatic Brain Injury Rat Model. *World Neurosurg*. 2018; 112: 719-731.doi: 10.1016/j.wneu.2018.01.140

416. Semenenko S, Semenenko A, Redkin R, Dobrovanov O, Dmitriev D, Semenenko O, Vidiščák M. Evaluation of ademol molecular target by bioinformatics method according to criteria of liquidity of biodaccessibility and molecular docking.

Lekársky obzor. 2022; 71 (1): 21-26.

417. Ходаковский АА. Нейроморфологическая оценка эффективности адемола в остром периоде модельного нарушения мозгового кровообращения. Человек и его здоровье. 2013; 1: 32-37.

418. MacLulich AMJ, FergusonKJ, Reid ML, DearyIJ,StarrJM,WardlawJM, et al.11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1, brain atrophy and cognitive decline. Neurobiology of Aging. 2012; 33: 207-207.doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.09.010

419. Семененко С. І., Ходаківський О. А., Семененко А. І., Семененко Н. О., Столярчук О. В. винахідники; Вінниц. нац. мед. ун-т ім. М. І. Пирогова патентовласник. Спосіб моделювання різних за ступенем важкості експериментальних черепно-мозкових травм у щурів за активністю нейрон-специфічної енлази. Патент на винахід України №145038, МПК А 61 В 17/00, G 09 В 23/28, G 01 № 33/48. 2020 Лист 10.

420. Wang W, Sasaki' H, Du-Shieng, Chien Z, Lee VHL. Lipophilicity influence on conjunctival drug penetration in the pigmented rabbit: a comparison with corneal penetration. Current Eye Research.1991;10(6):571-579.

421. Ткаченко Т. Ліки «через ніс»: деякі перспективи назальних лікарських форм. Фармацевт-практик. 2020;5(22).

422. Berrones-Sanz LD. Analysis of accidents and injuries on motorcycles in Mexico. Gac Med Mex. 2017; 153(6): 662-671.DOI:10.24875/GMM.M18000053

423. CarneyN, TottenAM, O'Reilly C,UllmanJS,HawrylukGWJ,BellMJ, et al.Guidelines for the Management of Severe Traumatic Brain Injury, 4th Edition.Neurosurgery. 2017;80(1):6-15. doi: 10.1227/NEU.0000000000001432

424. Shapira Y, Shohami E, Sidi A, Soffer D, Freeman S, Cotev S. Experimental closed head injury in rats: mechanical, pathophysiologic, and neurologic properties. Crit Care Med. 1988; 16: 258-265. doi: 10.1097/00003246-198803000-00010.

425. Finan JD. Biomechanical simulation of traumatic brain injury in the rat. Clin Biomech (Bristol, Avon). 2018; 64:114-121. doi:

10.1016/j.clinbiomech.2018.01.015

426. Ved R, Zaben M. Biomarkers for traumatic brain injury. *J Neurol*. 2018; 265, 1241-1243. <https://doi.org/10.1007/s00415-018-8855-2>

427. Anghinah R, Amorim RLO, Paiva WS, Schmidt MT, Ianof JN, et al. Traumatic brain injury pharmacological treatment: recommendations. *Arq Neuropsiquiatr*. 2018; 76(2): 100-103. doi: 10.1590/0004-282X20170196

428. Maas AR, Stocchetti N, Bullock R. Moderate and severe traumatic brain injury in adults. *Lancet Neurol*. 2008; 7(8): 728-741. doi: 10.1016/S1474-4422(08)70164-9.

429. Maas AIR, Menon DK, Adelson PD, Andelic N, Bell MJ, Belli A, et al. Traumatic brain injury: integrated approaches to improve prevention, clinical care, and research. *Lancet Neurol*. 2017; 16(12): 987-1048. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30371-X

430. Sieber MW, Claus RA, Witte OW, Frahm C. Attenuated inflammatory response in aged mice brains following stroke. *PLoS One*. 2011; 6(10): 5-11. doi: 10.1371/journal.pone.0026288

431. Семененко СІ, Семененко АІ, Поліщук СС, Вознюк ЛА, Семененко ОМ. Дослідження впливу адемола на обмін монооксиду азоту в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою. *Медицина невідкладних станів*. 2020; 16(1): 85–88. doi: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0586.16.1.2020.196934>

432. Семененко СІ. Можливості фармакологічної корекції порушення вуглеводного обміну в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2019; 23(3): 372–376. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2019-23(3)-05

433. Semenenko SI, Miedviedieva KP, Vasiuk SO, Burlaka BS. Development of a spectrophotometric technique for the quantitative determination of ademol. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2023; 16(1): 28-32. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.1.267437>

434. Семененко СІ, Ходаківський ОА, Семененко АІ, Семененко НО.

винахідники; Вінниц. нац. мед. ун-т ім. М. І. Пирогова патентовласник. Спосіб моделювання черепно-мозкової травми у щурів. Патент на винахід України № 144919, МПК G 09 B 23/28. 2019 Лист 10.

435. Семененко СІ, Семененко АІ. Церебропротекторні дози адемолу в умовах ЧМТ у щурів. В: Матеріали конгресу анестезіологів України (19–21 вересня 2019 р., м. Київ). Київ: НМУ імені О.О. Богомольця, 2019:85.

436. Семененко СІ, Семененко АІ. «Підводні камені» при інтенсивній терапії хворих з черепно-мозковою травмою. В: Конгрес анестезіологів України (19–21 вересня 2019 р., м. Київ). Київ: НМУ імені О.О. Богомольця, 2019.

437. Семененко СІ, Семененко АІ. Оцінка нейропротективних властивостей адемолу при експериментальній черепно-мозковій травмі. В: «Тріщинські читання»: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю. молодіжна анестезіологічна конференція (16–18 жовтня 2019 р., м. Київ). Київ: НМАПО імені П. Л. Шупика, 2019: 56–57.

438. Semenenko S, Semenenko A. Effectiveness of correction of discussion of carbohydrate metabolism in rats with craniocerebral injury. In: «Technology transfer: innovative solutions in medicine»: Proceedings of the 3rd Annual Conference (30 October 2019, Tallin, Estonia). Tallin: DKlex ACADEMY, 2019:30–32.

439. Семененко СІ, Семененко АІ. Спосіб відновлення порушень вуглеводного обміну у щурів із черепно-мозковою травмою. В: Збірник тез ІV Міжнародного медичного наук.-практ. форуму «Медицина України – європейський вибір» (27-28 лютого 2020 р., м. Івано-Франківськ). Івано-Франківськ: Івано-Франківський НМУ, 2020:27–29.

440. Semenenko A, Semenenko S, Solomonchuk A, Semenenko N. The effects of 1-adamantylethyloxy-3-morpholino-2-propanolhydrochloride on the formation of steroid neurotoxicity in rats with brain injury. In: 40th International Symposium on Intensive Care & Emergency Medicine (24-27 March 2020, Brussels, Belgium). CriticalCare. 2020; 24(1):027. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-2772-3>.

441. Семененко СІ, Семененко АІ, Яковлева ОО. Ефективність адемолу щодо корекції фактору некрозу пухлин у головному мозку щурів на моделі черепно-мозкової травми. В: «Ключові питання невідкладної допомоги, інтенсивної терапії та анестезіології» : матеріали Подільської всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (9–10 жовт. 2020 р., м. Вінниця). Журнал подільських конференцій. 2020;4(IV):59–60.

442. Семененко СІ, Семененко АІ, Яковлева ОО. Ефективність адемолу при експериментальній черепно-мозковій травмі щодо впливу на оксидативний стрес. В: Матеріали IV Міжнародного конгресу з інфузійної терапії (12-13 жовтня, 2020 р., м. Київ). *Infusion&Chemotherapy*.2020;3(1):71-72. DOI: 10.32902/2663-0338-2020-3/1-59

443. Семененко СІ, Ходаківський ОА, Яковлева ОО. Динаміка змін показників білку S 100 у щурів із черепно-мозковою травмою під впливом адемолу. В: «Невідкладна допомога, інтенсивна терапія та анестезіологічне забезпечення важкохворих» : матеріали Подільської всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (3–4 жовт. 2019 р., м. Вінниця). Журнал подільських конференцій.2019;3(III):68–69.

444. Семененко СІ, Яковлева ОО, Ходаківський ОА, Марчук ОВ. Динаміка змін концентрації білку S 100 у щурів із черепно-мозковою травмою. В: «Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової медицини»: матеріали X Всеукраїнської наук.-практ. конф. За участю міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології (7-8 листопада 2019 р., м. Вінниця). Вінниця:ВНМУ ім. М.І. Пирогова, 2019:192–194.

445. Семененко СІ, Хребтій НІ, Семененко АІ. Церебропротекторні властивості адемолу при черепно-мозкових травмах. Буковинський медичний вісник. 2020; 24(2): 159–166.

446. Semenenko S, Semenenko A, Khrebtii H, Bodnar R, Semenenko N. The effect of ademol on the dna fragmentation of cerebral cortex cells in rats with

experimental traumatic brain injury. *Georgian Medical News*.2021;9(318): 143–146.

Додаток А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Семененко СІ, Ходаківський ОА, Семененко ОМ, Яковлева ОО, Семененко НО. Оцінка нейропротективних властивостей адемолу в умовах експериментальної черепно-мозкової травми. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2019; 23(2): 209–211. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2019-23(2)-04

2. Семененко СІ. Можливості фармакологічної корекції порушення вуглеводного обміну в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2019; 23(3): 372–376. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2019-23(3)-05

3. Семененко СІ, Семененко АІ, Семененко ІФ. Вплив амантадину сульфату на стан церебральної та центральної гемодинаміки при експериментальній черепно-мозковій травмі. Медицина невідкладних станів. 2019; 6(101): 106–110. DOI: 10.22141/2224-0586.6.101.2019.179607

4. Семененко СІ, Семененко АІ, Семененко ОМ. Дослідження впливу амантадину сульфату на динаміку нейроапоптозу при експериментальній черепно-мозковій травмі. Медицина невідкладних станів. 2019; 7(102): 6–10. doi: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0586.7.102.2019.180352>

5. Семененко СІ. Дослідження церебропротекторної ефективності адемолу та магнію сульфату на експериментальній моделі черепно-мозкової травми. Клінічна та експериментальна патологія. 2019;18(3): 63–69. DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XVIII.3.69.2019.11>

6. Семененко СІ, Ходаківський ОА, Хребтій ГІ, Семененко АІ, Сасенко АВ. Вплив введення амантадину сульфату на перебіг процесів оксидативного

стресу в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою / Клінічна та експериментальна патологія. 2019; 18(4): 67–73.

7. Семененко СІ. Порівняльний вплив адемолу, амантадину сульфату, магнію сульфату на неврологічний дефіцит та мнестичні функції у щурів із моделлю черепно-мозкової травми. Буковинський медичний вісник. 2019; 23(4): 108–115. DOI: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXIII.4.92.2019.97>

8. Semenenko SI, Khrebtii HI, Semenenko AI. Investigation of the impact of amantadine sulphate on certain pathogenetic mechanisms of traumatic brain injury. Deutscher Wissenschaftsherold German Science Herald. 2019;4: 23–26. DOI: 10.19221/201945

9. Семененко СІ, Семененко АІ, Поліщук СС, Вознюк ЛА, Семененко ОМ. Дослідження впливу адемолу на обмін монооксиду азоту в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою. Медицина невідкладних станів. 2020; 16(1):85–88. doi: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0586.16.1.2020.196934>

10. Семененко СІ, Семененко АІ, Поліщук СС, Вознюк ЛА, Семененко ІФ. Вплив адемолу на рівень фактора некрозу пухлини α у головному мозку щурів з модельним травматичним ураженням мозку. Медицина невідкладних станів. 2020; 16(4): 121–124. DOI: 10.22141/2224-0586.16.4.2020.207941

11. Семененко СІ. Вплив адемолу на формування стероїдної нейротоксичності зарівнем кортизолу в умовах модельної черепно-мозкової травми. Клінічна та експериментальна патологія. 2020; 19(1): 85–90. DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XIX.1.71.2020.13>

12. Семененко СІ, Ходаківський ОА, Семененко АІ, Семененко ОМ. Оцінювання впливу різних церебропротекторів на динаміку церебральної та центральної гемодинаміки при черепно-мозковій травмі в щурів. Запоріж. мед. журн. 2020; 22(5): 622–626. DOI: <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2020.5.214725>

13. Semenenko S, Semenenko A, Malik S, Semenenko N, Malik L. Evaluation of the effect of ademol on the dynamics of neuron-specific enolase in traumatic brain

injury in rats. *Georgian Medical News*. 2020; 5: 123–126.

14. Семененко СІ, Хребтій НІ, Семененко АІ. Церебропротекторні властивості адемолу при черепно-мозкових травмах. *Буковинський медичний вісник*. 2020; 24(2): 159–166.

15. Semenenko S, Semenenko A, Khrebtii H, Bodnar R, Semenenko N. The effect of ademol on the dna fragmentation of cerebral cortex cells in rats with experimental traumatic brain injury. *Georgian Medical News*. 2021; 9(318): 143–146.

16. Semenenko S, Semenenko A, Semenenko N, Dobrovanov O, Dmytriiev D, Vidiščák M. The influence of the course infusion of ademol on the pool of adenyl nucleotides and intermediates of carbohydrate exchange in the brain of rats with traumatic brain injury. *Lekárskyobzor*. 2021; 70(6): 212–215.

17. Семененко С. Особливості морфологічних змін у структурах головного мозку щурів в умовах модельної черепно-мозкової травми. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2021; 20(2): 73–79. DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XX.2.76.2021.11>

18. Семененко СІ, Семененко АІ, Редькін РГ, Семененко ІФ. Оцінка молекулярної мішені адемолу методом хемоінформатики. *Медицина невідкладних станів*. 2021; 17(7): 37–41.

19. Semenenko S, Semenenko A, Redkin R, Dobrovanov O, Dmitriev D, Semenenko O, Vidiščák M. Evaluation of ademol molecular target by bioinformatics method according to criteria of liquidity of biodaccessibility and molecular docking. *Lekársky obzor*. 2022; 71 (1): 21-26.

20. Семененко СІ, Бурлака БС, Бурлака КА, Семененко ОМ. Розробка рідкої лікарської форми для інтраназального введення на основі адемолу. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022; 16(3): 205–213. <https://doi.org/10.33250/16.03.205>

21. Semenenko S, Semenenko A, Saienko A, Semenenko N, Konovalova N, Babina Y, Nazarchuk H. Study of the Effect of Ademol on the Dynamics of S100

Protein in Rats with Traumatic Brain Injury. Journal of Pharmaceutical Research International JPRI. 2022; 34(25A): 33–37. DOI: [10.9734/jpri/2022/v34i25A35945](https://doi.org/10.9734/jpri/2022/v34i25A35945)

22. Semenenko S, Semenenko A, Dobrovanov O, Saienko A, Semenenko N, Dmitriev D, Konovalova N. The effect of ademol on the dynamics of s100 proteins in rats with traumatic brain injury. Lekársky obzor. 2023. № 72 (4). С. 164-166

23. Semenenko SI, Miedviedieva KP, Vasiuk SO, Burlaka BS. Development of a spectrophotometric technique for the quantitative determination of ademol. Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2023; 16(1): 28-32. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.1.267437>

24. Semenenko S, Semenenko I, Burlaka B, Samura I, Bukhtiyarova N, Ryzhenko V, Khromylova O. Evaluation of the Cerebroprotective Properties of Ademol-gel in the Analysis of Specific Indicators in the Open Field Test. Biomed Pharmacol J. 2023; 16(2): 1219-1227. <https://dx.doi.org/10.13005/bpj/2702>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

25. Семененко С.І., Семененко А.І. «Підводні камені» при інтенсивній терапії хворих з черепно-мозковою травмою. Конгрес анестезіологів України (19–21 вересня 2019 р., м. Київ). – Київ: НМУ імені О.О. Богомольця, 2019. (Форма участі: усна доповідь).

26. Семененко С. І. Церебропротекторні дози адемоу в умовах ЧМТ у щурів / С. І. Семененко, А. І. Семененко // Матеріали конгресу анестезіологів України (19–21 вересня 2019 р., м. Київ). – Київ: НМУ імені О.О. Богомольця, 2019. – С. 85. (Форма участі: публікація тез).

27. Семененко С. І. Динаміка змін показників білку S100 у щурів із черепно-мозковою травмою під впливом адемоу / С. І. Семененко, О. А. Ходаківський, О. О. Яковлева // «Невідкладна допомога, інтенсивна терапія та анестезіологічне забезпечення важкохворих» : матеріали Подільської всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (3–4 жовт. 2019 р., м. Вінниця) // Журнал подільських конференцій. – 2019. – Т. 3(III). – С. 68–69. (Форма участі: публікація тез).

тез).

28. Семененко С. І. Оцінка нейропротективних властивостей адемоу при експериментальній черепно-мозковій травмі / С. І. Семененко, А. І. Семененко // «Тріщинські читання» : матеріали наук.-практ.конф. з міжнар. участю. Молодіжна анестезіологічна конференція (16–18 жовтня 2019 р., м. Київ). – Київ: НМАПО імені П. Л. Шупика, 2019. – С. 56–57. (Форма участі: публікація тез).

29. Semenenko S. Effectiveness of correction of discussion of carbohydrate metabolism in rats with craniocerebral injury / S. Semenenko, A. Semenenko // «Technology transfer: innovative solutions in medicine»: Proceedings of the 3rd Annual Conference (30 October 2019, Tallin, Estonia). – Tallin: DKlex ACADEMY, 2019. – P. 30–32. (Форма участі: публікація тез).

30. Динаміка змін концентрації білку S100 у щурів із черепно-мозковою травмою / С. І. Семененко, О. О. Яковлева, О. А. Ходаківський, О. В. Марчук // «Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової медицини» : матеріали X Всеукраїнської наук.-практ. конф. за участю міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології (7-8 листопада 2019 р., м. Вінниця). – Вінниця:ВНМУ ім. М.І. Пирогова, 2019. – С. 192–194. (Форма участі: усна доповідь, публікація тез).

31. Семененко С. І. Спосіб відновлення порушень вуглеводного обміну у щурів із черепно-мозковою травмою / С. І. Семененко, А. І. Семененко // Збірник тез IV Міжнародного медичного наук.-практ. форуму «Медицина України – європейський вибір» (27-28 лютого 2020 р., м. Івано-Франківськ). – Івано-Франківськ: Івано-Франківський НМУ, 2020. – С. 27–29. (Форма участі: публікація тез).

32. The effects of 1-adamantylethyloxy-3-morpholino-2-propanolhydrochloride on the formation of steroid neurotoxicity in rats with brain injury/ A. Semenenko, S. Semenenko, A. Solomonchuk, N. Semenenko // 40th International Symposium on Intensive Care & Emergency Medicine (24-27 March 2020, Brussels, Belgium). –

CriticalCare. – 2020. – Vol. 24(1). –027. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-2772-3>
(Форма участі: публікація тез).

33. Семененко С. І. Ефективність адемолу щодо корекції фактору некрозу пухлин у головному мозку щурів на моделі черепно-мозкової травми / С. І. Семененко, А. І. Семененко, О. О. Яковлева // «Ключові питання невідкладної допомоги, інтенсивної терапії та анестезіології» : матеріали Подільської всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (9–10 жовт. 2020 р., м. Вінниця)// Журнал подільських конференцій. –2020. – Т. 4 (IV). –С. 59–60. (Форма участі: публікація тез).

34. Семененко С. І. Ефективність адемолу при експериментальній черепно-мозковій травмі щодо впливу на оксидативний стрес / С. І. Семененко, А. І. Семененко, О. О. Яковлева // Матеріали IV Міжнародного конгресу з інфузійної терапії (12-13 жовтня, 2020 р., м. Київ). // Infusion&Chemotherapy. –2020. – Vol. 3(1). – Р. 71-72. DOI: 10.32902/2663-0338-2020-3/1-59 (Форма участі: публікація тез).

Апробація результатів дисертації:

1. Конгрес анестезіологів України (Київ, 2019),
2. Подільській всеукраїнській науково-практична конференція з міжнародною участю «Невідкладна допомога, інтенсивна терапія та анестезіологічне забезпечення важкохворих» (Вінниця, 2019),
3. Науково-практична конференція з міжнародною участю молодіжна анестезіологічна конференція «Тріщинські читання» (Київ, 2019),
4. Proceedings of the 3rd Annual Conference «Technology transfer: innovative solutions in medicine» (Tallin, 2019),
5. X Всеукраїнській науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології «Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової

медицини» (Вінниця, 2019),

6. IV Міжнародний медичний науково-практичний форум «Медицина України – європейський вибір» (Івано-Франківськ, 2020),

7. 40th International Symposium on Intensive Care & Emergency Medicine (Brussels, 2020),

8. IV Подільській всеукраїнській науково-практична конференція з міжнародною участю «Ключові питання невідкладної допомоги, інтенсивної терапії та анестезіології» (Вінниця, 2020),

9. IV Міжнародний конгрес з інфузійної терапії (Київ, 2020),

10. Всеукраїнська науково-практична Internet-конференція з міжнародною участю “Клінічна фармація в Україні та світі”, присвяченій 30-річчю заснування кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації НФаУ (Харків, 2023),

11. Науково-практична конференція «Клінічна фармакологія сьогодні: шляхи максимальної допомоги лікарській спеціальності» (Вінниця, 2023).

Додаток Б-1



ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор ЗВО

з науково-педагогічної (навчальної) роботи
Дніпровського державного медичного університету

доц. Сергій ЗАХАРОВ

« 8 » 11 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Вплив модуляторів NMDA-рецепторів на електрофізіологічні та біохімічні зміни в головному мозку за експериментальної черепно-мозкової травми

2. **Установа-розробник:** ВНМУ ім. М.І. Пирогова, кафедра клінічної фармації та клінічної фармакології, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018, Україна.

Розроблювач: Семененко Святослав Ігорович.

3. **Джерела інформації:**

1. Вплив введення амантадину сульфату на перебіг процесів оксидативного стресу в головному мозку шурів із черепно-мозковою травмою / С.І. Семененко, О.А. Ходаківський, Г.І. Хребтій, А.І. Семененко, А.В. Саснко // Клінічна та експериментальна патологія. - 2019. - Т.18, №4 (70). 2019. С.67-73.
2. Вплив адемола на формування стероїдної нейротоксичності за рівнем кортизолу в умовах модельної черепно-мозкової травми / С.І. Семененко // Клінічна та експериментальна патологія. 2020.- Т.19, №1(71). С.85-90.
3. Evaluation of the effect of ademol on the dynamics of neuron-specific enolase in traumatic brain injury in rats // Semenenko S, Semenenko A, Malik S, Semenenko N, Malik L / Georgian Medical News, №5 (302), 2020. P. 123-126.

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Дніпровський державний медичний університет, кафедра загальної та клінічної фармації.

5. **Результати застосування** пропозиції за період з вересня 2022 р. Матеріали використовуються в науково-педагогічному процесі кафедри загальної та клінічної фармації.

6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у науково-педагогічному процесі процесі дозволяє розширити знання студентів щодо впливу модуляторів NMDA-рецепторів на електрофізіологічні та біохімічні зміни в головному мозку при черепно-мозкових травмах різного генезу.

7. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

8. **Затверджено** на засіданні кафедри _____4 листопада_____ 2022 р. (протокол № 3)

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри загальної та клінічної фармації
Дніпровського державного
медичного університету
доктор фармацевтичних наук, професор

Олена ПОДПЛЕТНЯ

Додаток Б-2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Перший проректор
 з науково-педагогічної роботи та
 післядипломної освіти
 НМУ імені О.О. Богомольця
 чл-кор. НАМН України
 д.мед.н., професор
 Науменко О.М.
 « 23 » листопада 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: Церебропротекторні властивості модуляторів NMDA-рецепторів за експериментальної черепно-мозкової травми
2. Запропоновано: ВНМУ ім. М.І. Пирогова, кафедрою клінічної фармації та клінічної фармакології, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018, Україна. Розроблювач -Семененко Святослав Ігорович.
3. Джерела інформації: 1. Дослідження церебропротекторної ефективності адемолу та магнію сульфату на експериментальній моделі черепно-мозкової травми / С.І. Семененко // Клінічна та експериментальна патологія. 2019. Т.18, №3 (69). С. 63-69.
 2. Порівняльний вплив адемолу, амантадину сульфату, магнію сульфату на неврологічний дефіцит та мнестичні функції у щурів із моделлю черепномозкової травми / С.І. Семененко // Österreichisches Multiscience Journal. №19. 2019. С. 37-42.
 3. Оцінювання впливу різних церебропротекторів на динаміку церебральної та центральної гемодинаміки при черепно-мозковій травмі в щурів // С.І. Семененко, О. А. Ходаківський, А.І. Семененко, О.М. Семененко / Запорізький медичний журнал. 2020. Т. 22, № 5(122). С. 622-626
4. Де і коли впроваджено: кафедра клінічної фармакології та клінічної фармації НМУ імені О.О. Богомольця, з листопада 2022 р.
5. Ефективність впровадження: отримані результати наукових досліджень дозволяють використовувати їх у навчальному процесі, що значно поглибить знання студентів щодо церебропротекторних властивостей модуляторів NMDA-рецепторів при ЧМТ.
6. Зауваження та пропозиції: рекомендується для подальшого впровадження у навчальний процес для студентів 5-го курсу фармацевтичного факультету з дисциплін «Клінічна фармація та фармацевтична опіка», «Виробнича практика з клінічної фармації та фармацевтичної опіки», студентів 6-го курсу медичних факультетів з курсу «Клінічна фармакологія». Зауваження відсутні.
7. Затверджено на засіданні кафедри від « 23 » листопада 2022 р. (протокол № 13).

Завідувач кафедри клінічної фармації
 та клінічної фармакології НМУ імені О.О. Богомольця
 д.мед.н., професор



М.В. Хайтович

Додаток Б-3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Заступник директора з наукової роботи
Фізико-хімічного інституту
ім. О.В. Богатського НАН України
д.х.н., с.п.с. Г.Г. Кириченко



2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Оцінка церебропротекторних властивостей адемолу у вигляді інтраназальної лікарської форми при експериментальній черепно-мозковій травмі.

2. **Установа-розробник:** ВНМУ ім. М.І. Пирогова, кафедра клінічної фармації та клінічної фармакології, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018, Україна.

Розроблювач: Семененко Святослав Ігорович.

3. **Джерела інформації:**

1. Патент 144919 Спосіб моделювання черепно-мозкової травми у шурів / Семененко С.І., Ходаківський О.А., Семененко А.І., Семененко Н.О.// Зареєстровано в Державному реєстрі України 10.11.2020.
2. Церебропротекторні властивості адемолу при черепно-мозкових травмах / С.І. Семененко, Н.І. Хребтій, А.І. Семененко // Буковинський медичний вісник. 2020. Т.24, №2 (94). С. 159-166.
3. Evaluation of ademol molecular target by bioinformatics method according to criteria of liquidity of biodaccessibility and molecular docking // S. Semenenko, A. Semenenko, R. Redkin, O. Dobrovanyov, D. Dmitriev, .O. Semenenko, M. Vidišćák / Lekársky obzor.- 71, 2022, №1, С. 21-26
4. Семененко С.І., Брлака Б.С., Бурлака К.А., Семененко О.М. Розробка рідкої лікарської форми для інтраназального введення на основі адемолу // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2022. – Т.16, №3. – С. 205-213.

4. **Де і коли впроваджено:** у науковий процес лабораторії фізико-хімічної фармакології з „ 29 ” червня 2022 р.

5. **Результат впровадження:** Матеріали використовуються в науковій роботі лабораторії фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України

6. **Ефективність впровадження за критеріями, викладеними в джерелі інформації (п.3)**
Використання результатів наукових досліджень в науковій роботі дозволяє розширити знання здобувачів наукових ступенів та студентів щодо нейропротекторної дії модулятора NMDA рецепторів (адемолу) за умов експериментальної черепно-мозкової травми різного ступеня важкості, Доведені церебропротекторні властивості промислового зразка 1,0 % розчину Адемолу та розробленої інтраназальної лікарської форми доводять доцільність розробки інтраназальних лікарських форм в лікуванні патологічних станів різного генезу.

6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні лабораторії фізико-хімічної фармакології, протокол № 3 від „ 29 ” червня 2022 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач лабораторії фізико-хімічної фармакології,
д.біол.наук, старший дослідник

В.Б. Ларіонов

Додаток Б-4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор
 з науково-педагогічної роботи
 Буковинського державного медичного університету
 _____ д-р Ігор ГЕРУШ
 «16» _____ 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Вплив модуляторів NMDA-рецепторів на електрофізіологічні та біохімічні зміни в головному мозку за експериментальної черепно-мозкової травми

2. **Установа-розробник:** ВНМУ ім. М.І. Пирогова, кафедра клінічної фармації та клінічної фармакології, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018, Україна.

Розроблювач: Семененко Святослав Ігорович.

3. **Джерела інформації:**

1. Вплив введення амантадину сульфату на перебіг процесів оксидативного стресу в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою / С.І. Семененко, О.А. Ходаківський, Г.І. Хребтій, А.І. Семененко, А.В. Саєнко // Клінічна та експериментальна патологія. - 2019. - Т.18, №4 (70). 2019. С.67-73.
2. Вплив адемола на формування стероїдної нейротоксичності за рівнем кортизолу в умовах модельної черепно-мозкової травми / С.І. Семененко // Клінічна та експериментальна патологія. 2020.- Т.19, №1(71). С.85-90.
3. Evaluation of the effect of ademol on the dynamics of neuron-specific enolase in traumatic brain injury in rats // Semenenko S, Semenenko A, Malik S, Semenenko N, Malik L / Georgian Medical News, №5 (302), 2020, P. 123-126.

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Буковинський державний медичний університет, кафедра фармакології.

5. **Результати застосування** пропозиції за період з вересня 2022 р. Матеріали використовуються в науково-педагогічному процесі кафедри фармакології.

6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у науково-педагогічному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо впливу модуляторів NMDA-рецепторів на електрофізіологічні та біохімічні зміни в головному мозку при черепно-мозкових травмах різного генезу.

7. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

8. **Затверджено** на засіданні кафедри 22.09 2022 р. (протокол №2)

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології
 Буковинського державного
 медичного університету
 доктор медичних. професор



Ігор ЗАМОРСЬКИЙ

Додаток Б-5



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор ЗВО з наукової роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
проф. Олег Власенко
« 3 » жовтня 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Експериментальне моделювання черепно-мозкової травми різного ступеня важкості у щурів та оцінка захисних властивостей церебропротекторних засобів

2. **Установа-розробник:** ВНМУ ім. М.І. Пирогова, кафедра клінічної фармації та клінічної фармакології, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018, Україна.

Розроблювач: Семененко Святослав Ігорович.

Джерела інформації: Патент 144919 Спосіб моделювання черепно-мозкової травми у щурів / Семененко С.І., Ходаківський О.А., Семененко А.І., Семененко Н.О. // Зареєстровано в Державному реєстрі України 10.11.2020.

Патент 145038 Спосіб моделювання різних за ступенем важкості експериментальних черепно-мозкових травм у щурів за активністю нейрон-специфічної енолази / Семененко С.І., Ходаківський О.А., Семененко А.І., Семененко Н.О., Столярчук О.В. // Зареєстровано в Державному реєстрі України 10.11.2020.

Evaluation of ademo molecular target by bioinformatics method according to criteria of liquidity of biodaccessibility and molecular docking // S. Semenenko, A. Semenenko, R. Redkin, O. Dobrovanov, D. Dmitriev, O. Semenenko, M. Vidišćák / Lekársky obzor.- 71, 2022, №1, С. 21-26

Базова установа, яка проводить впровадження: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра внутрішньої медицини №2.

Результати застосування пропозиції за період з вересня по грудень 2022 р. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології на практичних заняттях.

3. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень в науковій роботі дозволяє розширити знання студентів та здобувачів щодо способів моделювання черепно-мозкової травми різного ступеня важкості у щурів.

4. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

5. **Затверджено** на засіданні кафедри 31.10 2022 р. (протокол № 3)

Відповідальний за впровадження: доц. С.І. Семененко

Завідувач кафедри внутрішньої медицини №2
Вінницького національного
медичного університету ім. М.І. Пирогова,
доктор медичних наук, професор

С.В. Шевчук

Додаток Б-6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з БО
з науково-педагогічної (навчальної) роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
проф. Оксана Серебреннікова
«_____» _____ 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Церебропротекторні властивості модуляторів NMDA-рецепторів за експериментальної черепно-мозкової травми

2. **Установа-розробник:** ВНМУ ім. М.І. Пирогова, кафедра клінічної фармації та клінічної фармакології, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018, Україна.

Розроблювач: Семененко Святослав Ігорович.

Джерела інформації: Дослідження церебропротекторної ефективності адемоу та магнію сульфату на експериментальній моделі черепно-мозкової травми / С.І. Семененко // Клінічна та експериментальна патологія. - 2019. - Т.18, №3 (69). С. 63-69.

Порівняльний вплив адемоу, амантадину сульфату, магнію сульфату на неврологічний дефіцит та м'ястичні функції у щурів із моделлю черепно-мозкової травми / С.І. Семененко // Österreichisches Multiscience Journal.- №19.2019. С. 37-42.

Оцінювання впливу різних церебропротекторів на динаміку церебральної та центральної гемодинаміки при черепно-мозковій травмі в щурів // С.І. Семененко, О. А. Ходаківський, А.І. Семененко, О.М., Семененко / Запорізький медичний журнал.- 2020. Т. 22, № 5(122). С. 622-626

Базова установа, яка проводить впровадження: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра клінічної фармації та клінічної фармакології.

Результати застосування пропозиції за період з серпня по грудень 2022 р. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології на практичних заняттях.

3. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо церебропротекторних властивостей модуляторів NMDA-рецепторів при ЧМТ.

4. **Зауваження, пропозицій:** не вносилися.

5. **Затверджено** на засіданні кафедри 29.08 2022 р. (протокол №1)

Відповідальний за впровадження: доц. С.І. Семененко

Завідувачка кафедри клінічної фармації
та клінічної фармакології
Вінницького національного
медичного університету ім. М.І. Пирогова,
доктор медичних наук, професорка




О.О. Яковлева

Додаток Б-7



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор ЗВО з науково-педагогічної роботи
Тернопільського національного медичного університету
ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України

проф. Аркадій ШУЛЬГАЙ
2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Церебропротекторні властивості адемолу за черепно-мозкових травм

2. **Установа-розробник:** ВНМУ ім. М.І. Пирогова, кафедра клінічної фармації та клінічної фармакології, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018, Україна.

Розроблювач: Семененко Святослав Ігорович.

3. **Джерела інформації:**

1. Оцінка нейропротективних властивостей адемолу в умовах експериментальної черепно-мозкової травми / С.І. Семененко, О.А. Ходаківський, О.М. Семененко, О.О. Яковлева, Н.О. Семененко // Вісник Вінницького національного медичного університету. 2019. Т.23, №2. С. 209-211
2. Церебропротекторні властивості адемолу при черепно-мозкових травмах / С.І. Семененко, Н.І. Хребтії, А.І. Семененко // Буковинський медичний вісник. 2020. Т.24, №2 (94). С. 159-166.
3. The effect of ademol on the dna fragmentation of cerebral cortex cells in rats with experimental traumatic brain injury // Semenenko S, Semenenko A, H Khrebtii, R Bodnar, N Semenenko / Georgian Medical News, №9 (318). 2021. P. 143-146.

3. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра фармакології з клінічною фармакологією

4. **Результати застосування** пропозиції за період з вересня 2022 р. Матеріали використовуються в науково-педагогічному процесі кафедри фармакології та клінічної фармакології

5. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень у науково-педагогічному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо церебропротекторних властивостей нового оригінальний вітчизняного лікарського засобу - 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу), виробництва ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця». Численні дослідження показали наявність у нього нейро-, кардіо- термо- актопротекторної, антигіпоксичної, протишемічної, анкіолітичної, ноотропної, анагетичної та адаптогенної дії. Доведені церебропротекторні властивості промислового зразка 1,0 % розчину Адемолу за черепно-мозкових травм дають підставу вважати його перспективним нейропротекторним засобом для лікування уражень головного мозку різного генезу.

1. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

2. **Затверджено** на засіданні кафедри фармакології та клінічної фармакології 10 жовтня 2022 р. (протокол № 9)

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології та
клінічної фармакології
Тернопільського національного
медичного університету ім. І.Я. Горбачевського
МОЗ України,
доктор медичних наук, професор

Олександра ОЛЕЩУК

Додаток В-1



Додаток В-2



Додаток Г

ДОГОВІР про науково-технічну співпрацю

Ми, сторони, що уклали цей Договір:

Запорізький державний медичний університет, далі за текстом «Університет», в особі ректора, професора Колесника Юрія Михайловича, та **Вінницький Національний медичний університет ім. М.І. Пирогова**, далі за текстом «Вінницький університет», в особі ректора, член-кореспондента АМНУ професора Мороза Василя Максимовича, з другої Сторони, а разом «Сторони», діючи у відповідності до Закону України про освіту, чинного законодавства України та Статутів вищеназваних установ, з метою взаємного сприяння належного рівня та ефективності підготовки фахівців, інтенсифікації фундаментальних та прикладних науково-технічних досліджень, домовились та уклали цю угоду Про науково-технічну співпрацю.

1. ПРЕДМЕТ ТА МЕТА ДОГОВОРУ

1.1. Діяльність сторін-виконавців цієї Програми здійснюється відповідно до Закону України «Про наукову і науково-технічну діяльність».

1.2. З метою сумісної організації і проведення спільних науково-дослідних робіт «Університет» та «Вінницький університет» укладають Договір про наукове співробітництво між кафедрою технології ліків (зав. каф. д. фарм. н., проф. Гладішев В. В.), кафедрою аналітичної хімії (зав. каф. д. фарм. н., проф. Васюк С. О.), кафедрою фармакології та медичної рецептури (зав. каф. д. біол. н., проф. Беленічев І. Ф.), далі за текстом «Кафедри технології ліків, аналітичної хімії та фармакології», з однієї сторони, та кафедрою фармакології, далі за текстом «Кафедра» в особі зав. кафедри, професора, д.мед.н. Волощук Наталія Іванівна з другої сторони.

1.3. Сторони беруть на себе зобов'язання по координуванню та сумісній організації і проведенню науково-дослідних робіт у межах спільних наукових інтересів.

1.4. Взаємне сприяння доступу до джерел науково-технічної інформації та технічних засобів наукових досліджень, узгоджених Сторонами (обмін документами, матеріалами та інформацією в межах обумовлених робіт, координацію самостійних дій Сторін, з метою досягнення сумісного результату, надання допомоги один одному в виконанні самостійних робіт, використання на взаємовигідних умовах обладнання, техніки, технологій), якими володіє кожна із Сторін за даним Договором; сумісні дії, з метою досягнення взаємовигідного результату.

1.5. Сприяння підвищенню кваліфікації працівників, задіяних у виконанні запланованих досліджень.

1.6. Підготовка спеціалістів вищої кваліфікації на рівні кандидатів та докторів наук.

1.7. Стажування аспірантів, науковців та викладачів, спільна участь у наукових семінарах, конференціях, читанні лекцій тощо.

1.8. Сумісна діяльність за даним Договором не передбачає створення Сторонами спільних господарюючих суб'єктів.

1.9. Сторони не несуть ніякої відповідальності перед третіми особами за самостійні дії однієї з них, в тому числі поза межами даного Договору.

1.10. Взаємовідносини Сторін за даним Договором будуються на принципах взаєморозуміння, рівності, взаємної вигоди і ділового партнерства.

2. УПОВНОВАЖЕНІ ПРЕДСТАВНИКИ

Уповноваженими представниками Сторін за даним Договором є:

> від «Університету» - професор та зав. кафедри технології ліків, д.фарм.н. Гладішев Віталій Валентинович, доцент кафедри технології ліків д.фарм.н. Бурлака Богдан Сергійович, професор та зав. кафедри аналітичної хімії д.фарм.н. Васюк Світлана Олександрівна, професор та зав. кафедри фармакології з медичною рецептурою та курсом нормальної фізіології, професор, д.біол.н. Беленічев Ігор Федорович;

> від «Вінницького університету» - зав. кафедри фармакології, професор, д.мед.н. Волощук Наталія Іванівна.

3. ПРАВА ТА ОБОВ'ЯЗКИ СТОРІН

3.1. Обов'язки «Кафедри технології ліків, аналітичної хімії та фармакології»:

- Проводити експериментальні дослідження по розробці інтраназальних препаратів церебропротекторів, вивчити гостру та хронічну токсичність розроблених препаратів, провести біохімічні дослідження на експериментальних білих щурах з впливу розроблених інтраназальних препаратів на процеси нейропротекції та апоптозу та на перебіг ішемічного процесу в головному мозку. У розроблених препаратів нейропротекторів вивчити специфічну, морфометричну, та гістохімічну активність;
- Проводити експериментальні дослідження по розробці аналітичних методик контролю якості назальних лікарських форм, а також окремих субстанцій;
- Проводити експериментальні дослідження фармакології нових нейропротективних засобів та інших біологічно активних субстанцій в межах сумісно складених планів
- Фіксувати сумісно проведені дослідження у лабораторних журналах, завірених підписом керівника дисертаційної роботи;
- Дисертанти, при консультативній допомозі обох сторін, проводять обробку результатів спільних досліджень; вказують в дисертації дані про те, де виконані дослідження, на якому обладнанні, а також про те, спільно з ким дисертантом проаналізовані дані дослідження; своєчасно інформує «Кафедру» про отримані результати досліджень.

3.2. Обов'язки «Кафедри»:

> поставити до ЗДМУ препарати церебропротективної дії та інші біологічно активні сполуки разом із документами, які підтверджують його якість та в кількості необхідній для проведення досліджень по протоколу для проведення доклінічних досліджень, а також здійснення експериментальних досліджень з їх впливу на нейропротекцію, на перебіг

ішемічного процесу в головному мозку та створення інтраназальних форм церебропротекторів;

розробити спільно з «Кафедрою технології ліків, аналітичної хімії та фармакології» методологію розробки нових назальних лікарських форм церебропротективної дії;

дисертанти, при консультативній допомозі обох сторін, проводять обробку результатів спільних досліджень;

дисертанти вказують в тексті дисертації дані про те, де виконані дослідження, на якому обладнанні, а також про те, спільно з ким дисертантом проаналізовані дані дослідження;

3.3. Обов'язки Сторін:

- > спільно публікувати результати досліджень;
- > своєчасно обмінюватися інформацією з вищевказаних проблем;
- > зберігати конфіденційність інформації, отриманої протягом дослідження.

3. СПІЛЬНА ДІЯЛЬНІСТЬ ТА ЇЇ РЕЗУЛЬТАТИ

3.1. Спільна діяльність за цією угодою не передбачає створення Сторонами спільних господарюючих суб'єктів. З фінансових питань Сторони діють як самостійні господарюючі суб'єкти, ведуть самостійний бухгалтерський облік, статистичну, податкову та іншу звітність. Сторони не несуть ніякої відповідальності перед третіми особами за дії один одного поза межами даного Договору.

3.2. Спільну діяльність за цією угодою Сторони здійснюють за взаємним погодженням.

3.3. Координацію спільної діяльності та бухгалтерський облік її результатів і відповідну звітність здійснює Університет, як головна організація за цією угодою в порядку, передбаченому Договором про співпрацю та чинним законодавством.

3.4. Науково-технічним продуктом і результатом спільної діяльності за цією угодою є науковий звіт, патент, наукові публікації, які є спільною власністю Сторін, якщо це не обумовлено окремими документами.

4. ТЕРМІН ДІЇ ДОГОВОРУ

4.1. Договір вступає в силу з дня його підписання Запорізьким державним медичним університетом та Вінницьким національним медичним університетом ім. М.І.Пирогова.

4.2. Термін дії Договору становить 3 роки з дня його підписання і за згодою сторін він може бути продовжений на наступні терміни такої ж тривалості.

4.3. Кожна зі Сторін може розірвати дану угоду протягом 30 днів у випадку порушення іншою Стороною умов договору та неналежного виконання роботи та у випадку, якщо буде вирішено припинити дослідження в цілому.

5. ПРИКІНЦЕВІ ПОЛОЖЕННЯ

5.1. Сторони погоджуються, що вся інформація, отримана в ході цього дослідження, вважається конфіденційною. Доступ до інформації обмежується колом осіб, які безпосередньо залучені до дослідження та усвідомлюють важливість конфіденційності. Вся інформація та дані, пов'язані з дослідженням, зберігаються у виключній таємничості до моменту їх опублікування, після чого можуть бути розкриті в узагальненому вигляді.

5.2. Для внесення змін та доповнень в рамках даного Договору сторони складають додаткові договори з відповідними положеннями.

5.3. Договір укладено українською мовою, в двох ідентичних екземплярах, по одному примірнику у кожній із Сторін, що мають однакову юридичну силу.

6. ЮРИДИЧНІ АДРЕСИ СТОРІН

| Університет | Вінницький університет |
|--|--|
| Запорізький державний медичний університет 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Тел. 0612246469; факс. (0612)336007 р/р 35224001000080 в банку Управління Держказначейства в Запорізькій області, МФО 813015 Код ЄДРПОУ 40100001 | Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, тел. (0432)611400; факс (0432)611400 р/р 35229004000026 в Банку ГУДК у Вінницькій області, МФО 802015 код ЗКПО-02010669 |
| Від Університету | Від Вінницького університету |
| Ректор  проф. А.М. Колесник | Ректор  проф. В.М. Мороз |

Зав. кафедри технологій ліків
ЗДМУ,
професор, д. фарм. н.

В.В. Гладишев

Доцент кафедри технологій ліків ЗДМУ,
д. фарм. н.

Б.С. Бурлака

Зав. кафедри аналітичної хімії ЗДМУ,
професор, д. фарм. н.

С.О. Васиук

Зав. кафедри фармакології ЗДМУ,
професор, д. біол. н.

І.Ф. Беленічев

Зав. кафедри фармакології,

професор, д.мед. н. Н.І. Волошук

Додаток Д-1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Руденко А.В

«20» квітня 2023 р.

АКТ АПРОБАЦІЇ В ПРОМИСЛОВЕ ВИРОБНИЦТВО

Зазначений акт складений, в зв'язку з успішною апробацією ТОВ «МОБІЛЬ МЕДКАЛ» промислової технології виробництва назального гелю з нейропротектором «Адемом», перевірено відтворення методик технологічного регламенту та апробовано методики контролю якості. Тавключена до Перспективного плану впровадження нових лікарських засобів на 2024 – 2026 рр.

Генеральний директор
ТОВ «МОБІЛЬ МЕДКАЛ»



Руденко А.В

Додаток Д-2



ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця"
вул. Бориспільська, 13, Київ 02093, Україна
Код ЄДРПОУ: 00481212
р/р 26001038873401 в ПАТ „УкрСиббанк”
МФО 351005

Тел.: (+380 44) 566-68-78 (приймальня)
Факс: (+380 44) 568-32-10
(+380 44) 207-73-10
(+380 44) 207-73-18 (відділ управління продажами)
(+380 44) 207-73-19

№ 1219/14-01 від 14.12.2017.

на № _____ від _____

<http://www.darnitsa.ua>

ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»» здійснює розробку промислового зразка ампульного розчину 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (Адемола) та впровадження його за новим призначенням в якості нейропротекторного засобу при деструктивно-дегенеративних ураженнях центральної та периферичної нервової системи, ґрунтуючись із поміж інших науково-експериментальних даних на результатах доклінічної оцінки його ефективності, що були отримані акад. НАМН України, д.мед.н., проф. Морозом В.М., д.мед.н., проф. Ходаківським О.А., к.мед.н., доц. Семененко С.І., к.фарм.н. Ходаківською О.В., к.мед.н., ст.н.с. Черешнюком І.Л., ст.л. Жабєдovou Н.В.

ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»» не заперечує, щодо можливості публікації в наукових фахових періодичних виданнях статей та тез доповідей на конференціях, з'їздах, конгресах та інших форумах акад. НАМН України, д.мед.н., проф. Морозу В.М., д.мед.н., проф. Ходаківському О.А. у співавторстві із к.мед.н., доц. Семененко С.І., к.фарм.н. Ходаківською О.В., к.мед.н., ст.н.с. Черешнюком І.Л., д.мед.н., Жабєдovou Н.В., щодо отриманих ними результатів за даною тематикою, а також захищати дисертації на здобуття наукового ступеня.

З повагою
Директор з розвитку

Никифорчин І.В.

Виконавець: Шаповалова А.О.
Помічник керівника підприємства
Тел.: 044-207-73-10