

Л. М. Сокуренько¹, Ю.Б. Чайковський¹, Ю.Й. Кудрявцев²

ЦИТОПРОТЕКТОРНА ДІЯ КОМБІНАЦІЇ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ЗА УМОВ РТУТНОЇ ЕКСПОЗИЦІЇ НА КУЛЬТУРІ КЛІТИН НЕРВОВОЇ ТКАНИНИ

¹Національний медичний університет імені О.О. Богомольця,²Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології імені Р.Є. Кавецького НАН України

Ртуть — це глобальний токсикант, який впливає на різні органи і системи організму людини, в першу чергу, на нервову систему [5]. В патогенезі дії ртуті на клітини нервової тканини відіграють провідну роль механізми посилення перекисного окислення ліпідів, пригнічення мітохондріального дихання та порушення кальцієвого гомеостазу клітини, генотоксичність (порушення структури і процесів репарації ДНК, нестабільність хромосом, хромосомна аберація), ферментотоксичність (за рахунок пригнічення рівня глутатіону, зв'язування SH-груп ферментів або витіснення есенціальних металів із металоферментів), а також мембранотоксична дія [6]. Саме різноплановість патологічної дії ртуті обумовлює пошук препаратів для відновлення функціонального стану нервової системи.

У клінічній практиці широко застосовуються комбінації препаратів, зокрема у багатьох дослідженнях використовують спільний вплив мілдронату та інших лікарських засобів. Обґрунтовано доцільність поєднаного застосування метаболічних препаратів (мілдронату та ізодибуту) у комплексному лікуванні діабетичної міокардіопатії у дітей, яка супроводжується рядом ускладнень [1]. Доведено позитивний ефект включення у комплексну терапію препарату "Мілдронат" з метою нормалізації ендокринної функції щитовидної залози та фетоплацентарного комплексу, підвищення активності біооксидантів, поліпшення васкуляризації та мета-

болізму ворсинчастого хоріону плаценти [2]. В літературі зустрічається використання мілдронату та вітаметалоніну за умов лікування тиреотоксичної кардіоміопатії, які сприяють більш швидкому відновленню систолічної та діастолічної функції міокарда та нормалізації порушень окисного гомеостазу [3]. Тому доцільно вивчити взаємний вплив мілдронату з різними антиоксидантами, які широко застосовуються в клінічній практиці.

Мета дослідження. Оцінка ефективності цитопротекторної дії комбінації препаратів унітіол, тіотриазолін, магне-В₆ та мілдронат за умов ртутної експозиції.

Матеріали та методи дослідження Дослідження проводилось на культурі нервових клітин. Дія хлориду ртуті вивчалась методом двократних серійних розведень на перещеплюваних культурах клітин IMR-32 (нейробластома людини) та U-373 (гліобластома людини). Чутливість клітин до дії хлориду ртуті [4] в присутності досліджуваних фармакологічних препаратів та їх комбінації (унітіол, тіотриазолін, магне-В₆, мілдронат) вивчали за інгібіцією ними цитотоксичного ефекту ртуті при фарбуванні клітин трипановим синім, підрахунок клітин здійснювали за допомогою гемоцитометра. Вивчення кожного об'єкта дослідження здійснювалось чотирікратно. У зв'язку з тим, що відбувався поділ живих та руйнування мертвих клітин визначали такі середні показники: відсотки живих (нейронів та нейроглиї) (L, %), індекси цитопатичних змін за мертвими

клітинами (ICC_D) та за живими клітинами (ICC_L), індекси проліферації за мертвими (IP_D), за живими клітинами (IP_L) та за загальною кількістю клітин (IP_g).

$L_{ex} = l/g * 100\%$, де l — кількість живих клітин, g — кількість всіх клітин у дослідженні.

$D_{ex} = d/g * 100\%$, де d — кількість живих клітин, g — кількість всіх клітин у дослідженні.

$ICC_L = L_{ex} / L_{hg}$, де L_{ex} — відсотки живих клітин від загальної кількості клітин у дослідженні з фармакотерапією, L_{hg} — відсотки живих клітин від загальної кількості клітин у досліді з хлоридом ртуті.

$ICC_D = D_{ex} / D_{hg}$, де D_{ex} — відсотки мертвих клітин від загальної кількості клітин у дослідженні з фармакотерапією, D_{hg} — відсотки мертвих клітин від загальної кількості клітин у досліді з хлоридом ртуті.

$$IP_G = g_{ex} / g_k, IP_L = l_{ex} / g_k, IP_D = d_{ex} / g_k,$$

де g_{ex} — кількість всіх клітин, l_{ex} — кількість живих клітин, d_{ex} — кількість мертвих клітин у дослідженні з фармакотерапією, g_k — кількість всіх клітин у досліді з хлоридом ртуті.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням пакету статистичних програм "Statistica 4.0" (Statistica Inc. USA), "Biostat" і MS Excell. Відмінності між групами встановлювали використанням непараметричного критерію Манна-Утні-Вілкоксона. Достовірними вважали відмінності з рівнем значущості більше 95% (p<0,05).

Результати досліджень

Вплив мілдронату на клітини нейрональної лінії IMR-32

У дослідженні культури нейрональної лінії IMR-32 за умов застосування мілдронату визначається безпечність препарату в діапазоні 1,0 — 0,01 мг/мл. Найкращі значення показників цитопротекторних властивостей (90,5 (90,0; 91,1) — 92,2 (90,5; 93,9)) (табл. 1), індексів цитопатичних змін (1,62 (1,61; 1,63) — 1,65(1,62; 1,68)) спостерігались саме для цих концентрацій (табл. 2), а найбільші індекси проліферації за всіма та за живими клітинами демонструвались при дозах 1,0 (1,34 (1,31; 1,38), 1,24 (1,19; 1,29)); 0,1 (1,30 (1,23; 1,38), 1,19 (1,13; 1,25)) мг/мл (табл. 3). При експозиції хлоридом ртуті з корекцією мілдрона-

Цитопротекторна дія препаратів на клітини нейрональної лінії IMR-32 *

Групи дослідження	мг/мл	Відсотки живих клітин Me (0,5L; 0,5U; n=4)	Відсотки мертвих клітин Me (0,5L; 0,5U; n=4)
мілдронат	10,0	88,9 (88,7; 89,1) ^{1,2}	11,1 (10,9; 11,3) ^{1,2}
	1,0	92,2 (90,5; 93,9) ^{1,2,3}	7,79 (6,1; 9,5) ^{1,2,3}
	0,1	91,2 (90,9; 91,5) ^{1,2}	8,78 (8,5; 9,1) ^{1,2}
	0,01	90,5 (90,0; 91,1) ^{1,2}	9,46 (8,9; 10,0) ^{1,2}
унітіол+мілдронат		90,0 (87,3; 92,7) ^{1,2}	10,0 (7,3; 12,7) ^{1,2}
тіотриазолін+мілдронат		90,7 (90,6; 90,9) ^{1,2}	9,3 (9,1; 9,4) ^{1,2}
магне-В ₆ +мілдронат		93,4 (93,2; 93,6) ^{1,2}	6,6 (6,4; 6,8) ^{1,2}
HgCl ₂ + мілдронат	10,0	79,0 (76,0; 82,0) ^{1,2}	21,0 (18,0; 24,0) ^{1,2}
	1,0	79,9 (74,1; 85,7) ^{1,2}	20,11 (14,3; 25,9) ^{1,2}
	0,1	62,2 (60,0; 64,4) ^{1,2,3}	37,78 (35,6; 40,0) ^{1,2,3}
	0,01	58,1 (53,7; 62,5) ¹	41,92 (37,5; 46,3) ¹
HgCl ₂ + унітіол + мілдронат		87,7 (86,6; 88,9) ^{1,2,4}	12,3 (11,1; 13,4) ^{1,2,4}
HgCl ₂ + тіотриазолін + мілдронат		87,0 (85,5; 88,5) ^{1,2,3,4}	13,0 (11,5; 14,5) ^{1,2,3,4}
HgCl ₂ + магне-В ₆ + мілдронат		90,3 (88,5; 92,1) ^{1,2,3,4}	9,7 (7,89; 11,5) ^{1,2,3,4}
ртуть		50,5 (45,2; 55,9)	49,5 (44,1; 54,8)
контроль		100,0 (100,0; 100,0)	0,0 (0,0; 0,0)

Примітка: тут та у таблицях 2-6**:

Примітка: 1 — достовірно відносно контролю (р < 0,05); 2 — достовірно відносно групи спостережень без фармакологічного впливу (р < 0,05); 3 — достовірно відносно дослідження з моно впливом (р < 0,05); 4 — достовірно відносно дослідження з мілдронатом (р < 0,05)

том на культурі нейронів лінії IMR-32 виявлені цитопротекторні властивості в дозах 10,0; 1,0 мг/мл. Для цих концентрацій спостерігались найкращі значення показників цитопротекторних властивостей (79,0 (76,0; 82,0), 79,9 (74,1; 85,7)) (табл. 1), індексів цитопатичних змін (1,42 (1,36; 1,47), 1,43 (1,33; 1,54)) (табл. 2) та індексів проліферації нейронів (0,82 (0,79; 0,85), 0,85 (0,83; 0,88)) (табл. 3).

Вплив мілдронату на клітини нейрогліальної лінії U-373

Найкращі значення проявів безпечності дії мілдронату на клітини нейрогліальної лінії U-373 спостерігаються при дозах від 10,0 до 0,01 мг/мл: відсотки живих клітин — найкращі при концентраціях 10,0 та 0,01 мг/мл (91,7 (91,3; 92,0) — 95,8 (93,62; 97,96)) (табл. 4), індекси цитопатичних змін за живими клітинами зростають (1,77(1,76; 1,78)- 1,85 (1,81; 1,89)), а за мертвими (0,09(0,04; 0,13)- 0,17(0,17; 0,18)) ? падають, навіть сягаючи значень контролю (табл. 5). Індекси проліферації за всіма та живими клітинами найбільші в дозі 0,01 мг/мл (1,59(1,49; 1,69), 1,49(1,42;

1,57), а в дозі 0,1 мг/мл (1,31(1,30; 1,33), 1,20(1,18; 1,23)) сягають значень контролю (табл. 6). Індекси проліферації за мертвими клітинами при концентрації 10 мг/мл (0,05(0,02; 0,07)) дорівнює показнику контролю, а в інших — незначно зростає (табл. 6). Під впливом мілдронату за умов експозиції хлоридом ртуті на клітини нейрогліальної лінії U-373 цитопротекторні властивості проявляються в дозах 10,0 — 0,01 мг/мл. Найбільші значення процентного співвідношення живих клітин (61,8 (59,09; 64,52)- 73,0 (69,77; 76,19)) (табл. 4) та індексів цитопатичних змін за живими (1,19(1,14; 1,25)- 1,41(1,35; 1,47)) та за мертвими клітинами (0,79(0,74; 0,85)- 0,56(0,49; 0,63)) спостерігаються у діапазоні концентрацій мілдронату 0,1 — 10,0 мг/мл (табл. 5). Індекси проліферації для живих клітин для доз від 0,01 — 10,0 мг/мл не мають статистично значимих відмінностей між собою (0,90(0,75; 1,06)). Однак найбільші індекси проліферації за живими клітинами (0,75(0,72; 0,77)) визначаються при дозі 10,0 мг/мл (табл. 6).

Вплив унітіолу з мілдронатом на клітини нейрональної лінії IMR-32

При дослідженні культури клітин нейрональної лінії IMR-32 за умов комбінованого впливу препаратів "Унітіол" та "Мілдронат" визначається безпечність їх застосування. Спостерігається наближення до нормальних значень процентного складу культури (90,0 (87,3; 92,7)%) (табл. 1), індекс цитопатичних змін за живими клітинами (1,8 (1,73; 1,83)) переважає контрольний показник, хоча за мертвими клітинами (0,20 (0,15; 0,26)) не набагато більше контролю (табл. 2). Індекси проліферації за всіма (1,09 (1,01; 1,16)) та живими клітинами (0,98 (0,88; 1,08)) незначно менше норми, а за мертвими клітинами (0,11 (0,09; 0,13)) — трохи менше (табл. 3). У досліді при комбінованому застосуванні унітіолу та мілдронату при експозиції хлоридом ртуті на культурі клітин нейрональної лінії IMR-32 виявлені їх цитопротекторні властивості. Хоча відсотки живих клітин (87,7 (86,6; 88,9)) (табл. 1) та індекси цитопатичних змін (1,74 (1,71; 1,76)) не досягають норми, але, аналогічно значен-

ням показників при застосуванні унітіолу, істотно більший за показники при ртутній експозиції без протекції та із впливом мілдронату (табл. 2). Індокси проліферації ней-

рональної лінії за всіма (1,16 (1,15; 1,16)) та живими клітинами (1,01 (1,01;1,02)) незначно менші контролю та більші ніж в інших групах порівнянь, у той же час як індекс за

мертвими клітинами (0,14(0,13; 0,16)) суттєво менший у досліді з експозицією ртуттю та з корекцією ртутної експозиції мілдронатом та унітіолом окремо (табл. 3).

Таблиця 2

Цитопатичні зміни культури нейрональної лінії IMR-32 **

Групи дослідження	мг/мл	Відсотки живих клітин Me (0,5L; 0,5U; n=4)	Відсотки мертвих клітин Me (0,5L; 0,5U; n=4)
мілдронат	10,0	88,9 (88,7; 89,1) ^{1,2}	11,1 (10,9; 11,3) ^{1,2}
	1,0	92,2 (90,5; 93,9) ^{1,2,3}	7,79 (6,1; 9,5) ^{1,2,3}
	0,1	91,2 (90,9; 91,5) ^{1,2}	8,78 (8,5; 9,1) ^{1,2}
	0,01	90,5 (90,0; 91,1) ^{1,2}	9,46 (8,9; 10,0) ^{1,2}
унітіол+мілдронат		90,0 (87,3; 92,7) ^{1,2}	10,0 (7,3;12,7) ^{1,2}
тіотриазолін+мілдронат		90,7 (90,6; 90,9) ^{1,2}	9,3 (9,1; 9,4) ^{1,2}
магне-В ₆ +мілдронат		93,4 (93,2; 93,6) ^{1,2}	6,6 (6,4; 6,8) ^{1,2}
HgCl ₂ + мілдронат	10,0	79,0 (76,0; 82,0) ^{1,2}	21,0 (18,0; 24,0) ^{1,2}
	1,0	79,9 (74,1; 85,7) ^{1,2}	20,11 (14,3; 25,9) ^{1,2}
	0,1	62,2 (60,0; 64,4) ^{1,2,3}	37,78 (35,6; 40,0) ^{1,2,3}
	0,01	58,1 (53,7; 62,5) ¹	41,92 (37,5; 46,3) ¹
HgCl ₂ + унітіол + мілдронат		87,7 (86,6; 88,9) ^{1,2,4}	12,3 (11,1; 13,4) ^{1,2,4}
HgCl ₂ + тіотриазолін + мілдронат		87,0 (85,5; 88,5) ^{1,2,3,4}	13,0 (11,5; 14,5) ^{1,2,3,4}
HgCl ₂ + магне-В ₆ + мілдронат		90,3 (88,5; 92,1) ^{1,2,3,4}	9,7 (7,89; 11,5) ^{1,2,3,4}
ртуть		50,5 (45,2; 55,9)	49,5 (44,1; 54,8)
контроль		100,0 (100,0; 100,0)	0,0 (0,0; 0,0)

Таблиця 3

Проліферативні зміни клітин нейрональної лінії IMR-32 **

Групи дослідження	мг/мл	Індекс проліферації за всіма клітинами	Індекс проліферації за живими клітинами	Індекс проліферації за мертвими клітинами
		Me (0,5L;0,5U; n=4)		
мілдронат	10,0	1,13 (1,10; 1,15)	1,00 (0,98; 1,02) ^{1,2}	0,13 (0,13; 0,13) ^{1,2}
	1,0	1,34 (1,31; 1,38) ^{1,2,3}	1,24 (1,19; 1,29) ^{2,3}	0,10 (0,08; 0,13) ^{1,2}
	0,1	1,30 (1,23; 1,38) ²	1,19 (1,13; 1,25) ²	0,11 (0,10; 0,13) ^{1,2}
	0,01	1,21 (1,17; 1,25) ¹	1,09 (1,06; 1,13) ¹	0,11 (0,10; 0,13) ^{1,2}
унітіол+мілдронат		1,09 (1,01; 1,16) ^{1,2}	0,98 (0,88;1,08) ^{1,2}	0,11 (0,09; 0,13) ^{1,2}
тіотриазолін+мілдронат		1,15 (1,09; 1,21) ²	1,04(0,99; 1,09) ^{1,2}	0,10(0,10; 0,11) ^{1,2}
магне-В ₆ +мілдронат		1,07 (1,04; 1,11) ^{1,2}	1,00 (0,96; 1,04) ^{1,2}	0,07 (0,07; 0,07) ²
HgCl ₂ + мілдронат	10,0	1,04 (1,04; 1,04) ¹	0,82 (0,79; 0,85) ^{1,2}	0,22 (0,19; 0,25) ^{1,2}
	1,0	1,07 (1,02; 1,13)	0,85 (0,83; 0,88) ^{1,2}	0,22 (0,15; 0,29) ^{1,2}
	0,1	1,09 (0,94; 1,25)	0,68 (0,60; 0,75) ^{1,3}	0,42 (0,33; 0,50) ^{1,3}
	0,01	0,93 (0,85; 1,00) ¹	0,54 (0,46; 0,63) ¹	0,39 (0,38; 0,40) ^{1,2}
HgCl ₂ + унітіол + мілдронат		1,16 (1,15; 1,16) ^{1,3,4}	1,01 (1,01;1,02) ^{1,2,3,4}	0,14(0,13; 0,16) ^{1,2,4}
HgCl ₂ + тіотриазолін + мілдронат		1,09(1,08; 1,11) ^{1,2,4}	0,95(0,92; 0,98) ^{1,2,3,4}	0,14(0,13; 0,16) ^{1,2,3,4}
HgCl ₂ + магне-В ₆ + мілдронат		1,09 (1,08; 1,11) ^{1,2,3,4}	0,99 (0; 0,99) ^{1,2,3,4}	0,11 (0,09; 0,13) ^{1,2,3,4}
ртуть		1,00 (0,88; 1,13)	0,56(0,46; 0,67) ¹	0,44 (0,42; 0,46) ¹
контроль		1,17 (1,10; 1,23)	1,17 (1,10; 1,23)	0,44 (0,42; 0,46) ¹

Цитопротекторна дія препаратів на клітини нейрогліальної лінії U-373 **

Групи дослідження	мг/мл	Відсотки живих клітин Me (0,5L; 0,5U; n=4)	Відсотки мертвих клітин Me (0,5L; 0,5U; n=4)
мілдронат	10,0	95,8 (93,62; 97,96)	4,2 (2,04; 6,38)
	1,0	91,7 (91,3; 92,0) ^{1,3}	8,4 (8,0; 8,7) ^{1,3}
	0,1	91,7 (90,74; 92,73) ¹	8,3 (7,27; 9,26) ¹
	0,01	94,0 (92,86; 95,16) ^{1,3}	6,0 (4,84; 7,14) ^{1,3}
унітіол+мілдронат		91,6 (90,8; 92,5) ^{1,2}	8,4 (7,5; 9,2) ^{1,2}
тіотриазолін+мілдронат		92,7 (92,1; 93,2) ^{1,2}	7,3 (6,8; 7,9) ^{1,2}
магне-В ₆ +мілдронат		93,3 (93,2; 93,3) ^{1,2}	6,7 (6,7; 6,8) ^{1,2}
HgCl ₂ + мілдронат	10,0	73,0 (69,77; 76,19) ^{1,2}	27,0 (23,81; 30,23) ^{1,2}
	1,0	67,3 (62,79; 71,88) ^{1,2}	32,7 (28,13; 37,21) ^{1,2}
	0,1	61,8 (59,09; 64,52) ^{1,2}	38,2 (35,48; 40,91) ^{1,2}
	0,01	52,5 (52,38; 52,63) ^{1,2,3}	47,5 (47,37; 47,62) ^{1,2,3}
HgCl ₂ + унітіол + мілдронат		89,9 (88,7; 91,1) ^{1,2,4}	10,1 (8,9; 11,3) ^{1,2,4}
HgCl ₂ + тіотриазолін + мілдронат		88,8 (87,5; 90,1) ^{1,2,3,4}	11,2 (9,9; 12,5) ^{1,2,3,4}
HgCl ₂ + магне-В ₆ + мілдронат		90,9 (90,1; 90,7) ^{1,2,3,4}	9,1 (8,3; 9,9) ^{1,2,3,4}
ртуть		51,8 (48,78; 54,76) ¹	48,2 (45,24; 51,22) ¹
контроль		95,5 (94,92; 96,08)	4,5 (3,92; 5,08)

Вплив унітіолу з мілдронатом на клітини нейрогліальної лінії U-373

При вивченні клітин нейрогліальної лінії U-373 за умов комбінованого застосування унітіолу та мілдронату спостерігається безпечність цієї комбінації. Відсоток живих клітин (91,6 (90,8; 92,5)) (табл. 4) та індекс

цитопатичних змін за живими клітинами (1,77 (1,75; 1,79)) незначно менший за норму, а за мертвими клітинами (0,17(0,16; 0,19)) — має невеликі відмінності від неї (табл. 5). Індеси проліферації за всіма (1,88 (1,83;1,93)) та живими клітинами (1,72(1,66; 1,78)) більші, ніж у конт-

ролі, індекс проліферації за мертвими клітинами (0,16 (0,14; 0,17)) однаковий, має найменші відмінності від контролю (табл.6). При експозиції хлоридом ртуті та комбінованого застосування унітіолу та мілдронату процент живих клітин (89,9 (88,7; 91,1)) (табл.4) та індекс цитопатич-

Таблиця 5

Цитопатичні зміни культури нейрогліальної лінії U-373 **

Групи дослідження	мг/мл	Індекс цитопатичних змін за живими клітинами Me (0,5L; 0,5U; n=4)	Індекс цитопатичних змін за мертвими клітинами Me (0,5L; 0,5U; n=4)
мілдронат	10,0	1,85 (1,81; 1,89)	0,09(0,04; 0,13)
	1,0	1,77(1,76; 1,78) ^{1,3}	0,17(0,17; 0,18) ^{1,3}
	0,1	1,77(1,75; 1,79) ¹	0,17(0,15; 0,19) ¹
	0,01	1,82(1,79; 1,84) ^{1,3}	0,12(0,10; 0,15) ^{1,3}
унітіол+мілдронат		1,77 (1,75; 1,79) ^{1,2}	0,17(0,16; 0,19) ^{1,2}
тіотриазолін+мілдронат		1,79 (1,78; 1,80) ^{1,2}	0,15 (0,14; 0,16) ^{1,2}
магне-В ₆ +мілдронат		1,80 (1,80; 1,80) ^{1,2}	0,14 (0,14; 0,14) ^{1,2}
HgCl ₂ + мілдронат	10,0	1,41(1,35; 1,47) ^{1,2}	0,56(0,49; 0,63) ^{1,2}
	1,0	1,30(1,21; 1,39) ^{1,2}	0,68(0,58; 0,77) ^{1,2}
	0,1	1,19(1,14; 1,25) ^{1,2}	0,79(0,74; 0,85) ^{1,2}
	0,01	1,01(1,01; 1,02) ^{1,2,3}	0,98(0,98; 0,99) ^{1,2,3}
HgCl ₂ + унітіол + мілдронат		1,74 (1,71; 1,76) ^{1,2,4}	0,21(0,18; 0,23) ^{1,2,4}
HgCl ₂ + тіотриазолін + мілдронат		1,72 (1,69; 1,74) ^{1,2,3,4}	0,23 (0,20; 0,26) ^{1,2,3,4}
HgCl ₂ + магне-В ₆ + мілдронат		1,76 (1,74; 1,77; n=4) ^{1,2,3,4}	0,19 (0,17; 0,20) ^{1,2,3,4}
ртуть		1,00(0,94; 1,06) ¹	1,00(0,94; 1,06) ¹
контроль		1,84(1,83; 1,86)	0,09(0,08; 0,11)

них змін за живими клітинами (1,74 (1,71;1,76)) незначно менший за показник контролю, дорівнюючи значенням показників при застосуванні унітіолу, суттєво переважає показники при ртутній експозиції та за умов протекції мілдронатом (табл.5). Індекси проліферації клітин нейрогліальної лінії U-373 за всіма (1,81 (1,71; 1,90)) та живими клітинами (1,63(1,52; 1,73)) суттєво більше норми, моделі інтоксикації та її монотерапії зазначеними вище лікарськими засобами. Індекс проліферації за мертвими гліоцитами (0,18(0,17; 0,19)) істотно більші, ніж у контролі, при ртутній експозиції та її монотерапії зазначеними вище лікарськими засобами (табл.6).

Вплив тіотриазоліну з мілдронатом на клітини нейрогліальної лінії IMR-32

Досліджуючи клітини культури нейрогліальної лінії IMR-32 за умов комбінованого застосування тіотриазоліну та мілдронату, визначали їх безпечність. Процентний склад культури нейрогліальної лінії (90,7 (90,6; 90,9)) (табл. 1) наближається до нормальних значень, індекс цитопатичних змін за живими клітинами (1,80 (1,79; 1,80)) переважає контрольний показник, а за мертвими клітинами (0,19 (0,18; 0,19)) незначно більше контролю (табл. 2). Індекс проліферації за всіма (1,09 (1,01; 1,16)) та за живими клітинами

(0,98 (0,88;1,08)) сягає значень контролю за рахунок зростання індексу за живими клітинами (табл. 3).

При вивченні впливу на комбінацію тіотриазоліну та мілдронату при експозиції хлоридом ртуті на культурі нейрогліальної лінії IMR-32, виявлено їх захисні властивості. Відсотки живих клітин (87,0 (85,5; 88,5)) ((табл. 1) контролю, але суттєво більші за показники при ртутній експозиції без протекції та окремої дії мілдронату та тіотриазоліну. Індекс цитопатичних змін за живими клітинами (1,72 (1,69; 1,75)) більший, ніж в усіх групах порівнянь (табл. 2). Індекси проліферації нейрогліальної лінії за всіма (1,09(1,08; 1,11)) та живими (0,95(0,92; 0,98)) клітинами незначно менші контролю та більші, ніж в інших групах порівнянь, аналогічно значенню щодо показника індексу за всіма клітинами при застосуванні тіотриазоліну. Індекс за мертвими клітинами (0,14(0,13; 0,16)) істотно менший, ніж в усіх груп порівняння, хоча і залишається більшим контролю (табл. 3).

Вплив тіотриазоліну з мілдронатом на клітини нейрогліальної лінії U-373

Під час дослідження клітин нейрогліальної лінії U-373 за умов дії комбінації тіотриазоліну та мілдронату визначається безпечність їх застосування. Процент живих клітин (92,7 (92,1;93,2)) (табл. 4) та

індекс цитопатичних змін за живими клітинами (1,77 (1,75; 1,79)) хоча і менше контролю, але наближається до нього. Індекс за мертвими гліоцитами (0,17(0,16; 0,19)) також наближається до значення контролю, хоча відмінності все ще зберігаються (табл. 5). Індекси проліферації за всіма (1,81 (1,78; 1,83)) та живими клітинами (1,67 (1,66;1,69)) більші за контроль, індекс проліферації для мертвих клітин (0,13(0,12; 0,14)) (табл. 6). При спільній корекції тіотриазоліном та мілдронатом токсичного впливу хлориду ртуті на культуру гліальних клітин визначається достатній рівень її ефективності. Відсоток живих клітин (88,8 (87,5; 90,1)) (табл. 4) та індекс цитопатичних змін за живими клітинами (1,72 (1,69; 1,74)) незначно менший за контроль та більший, ніж значення показників моделі інтоксикації та її монотерапії зазначеними вище лікарськими засобами (табл. 5). Індекси проліферації нейроглії за всіма (1,72 (1,71; 1,73)) та за живими клітинами (1,53 (1,52; 1,54)) істотно більші за показники інших груп без протекції та з монотерапією. Індекс проліферації за мертвими клітинами культури U-373 (0,19 (0,17; 0,22)), хоча і більший за контроль, але менший за значення показника при експозиції хлоридом ртуті та його корекції мілдронатом чи тіотриазоліном (табл. 6).

Таблиця 6

Проліферативні зміни клітин нейрогліальної лінії U-373 **

Групи дослідження	мг/мл	Індекс проліферації за всіма клітинами	Індекс проліферації за живими клітинами Me (0,5L; 0,5U; n=4)	Індекс проліферації за мертвими клітинами Me (0,5L; 0,5U; n=4)
мілдронат	10,0	1,16(1,13; 1,18) 1	1,11(1,06; 1,16) 1	0,05(0,02; 0,07) 1
	1,0	1,16 (1,11; 1,20) 1	1,06(1,01; 1,11) 1	0,10(0,10; 0,10) 1,3
	0,1	1,31(1,30; 1,33) 3	1,20(1,18; 1,23) 3	0,11(0,10; 0,12) 1
	0,01	1,59(1,49; 1,69) 1,3	1,49(1,42; 1,57) 1,3	0,10(0,07; 0,12)
унітіол+мілдронат		1,88 (1,83;1,93)1,2	1,72(1,66; 1,78) 1,2	0,16 (0,14; 0,17) 1,2
тіотриазолін+мілдронат		1,81 (1,78; 1,83)1,2	1,67 (1,66;1,69) 1	0,13(0,12; 0,14) 1
магне-В ₆ +мілдронат		1,80 (1,78; 1,81) 1,2	1,67 (1,66; 1,69)1,2	0,12 (0,12; 0,12) 1,2
HgCl ₂ + мілдронат	10,0	1,02(1,01; 1,04) 1	0,75(0,72; 0,77) 1	0,28(0,24; 0,31) 1,2
	1,0	0,90(0,77; 1,04) 1	0,60(0,55; 0,65) 1,3	0,30(0,22; 0,39) 1,2
	0,1	0,90(0,75; 1,06) 1	0,55(0,48; 0,63) 1	0,35(0,27; 0,43) 1,2
	0,01	0,96(0,92; 1,01) 1	0,51(0,48; 0,53) 1	0,46(0,43; 0,48) 1
HgCl ₂ + унітіол + мілдронат		1,81 (1,71; 1,90) 1,2,3	1,63(1,52; 1,73) 1,2,4	0,18(0,17; 0,19) 1,2,4
HgCl ₂ + тіотриазолін + мілдронат		1,72 (1,71; 1,73) 1,2,3	1,53 (1,52; 1,54) 1,2,3,4	0,19 (0,17; 0,22) 1,2,3,4
HgCl ₂ + магне-В ₆ + мілдронат		1,72 (1,71; 1,73) 1,2,3	1,57 (1,54; 1,59) 1,2,3,4	0,16 (0,14; 0,17) 1,2,3,4
ртуть		1,00(0,99; 1,01) 1	0,52(0,48; 0,55) 1	0,48(0,46; 0,51) 1
контроль		1,33(1,23; 1,42)	1,27(1,18; 1,35)	0,06(0,05; 0,07)

Вплив магне-В₆ з мілдронатом на клітини нейрональної лінії IMR-32

Вивчення культури нейронів ліній IMR-32 за умов комбінованого застосування препаратів "Магне-В₆" та "Мілдронат" визначає безпечність його застосування. Відсоток живих нейронів склад наближається до нормальних значень (93,4 (93,2; 93,6)) (табл. 1), індекси цитопатичних змін за живими клітинами (1,85 (1,84; 1,85)) та за мертвими клітинами (0,13 (0,13; 0,14)) переважає контрольний показник (табл. 2). Індекси проліферації за всіма (1,07 (1,04; 1,11)) та за живими клітинами (1,00 (0,96; 1,04)) наближається до значень контролю, а за мертвими клітинами (0,07 (0,07; 0,07)) дорівнює контрольному показнику (табл. 3).

При дослідженні дії комбінації препаратів "Магне-В₆" та "Мілдронат" при експозиції хлоридом ртуті культури нейронів ліній IMR-32 виявлено високий рівень протекторної дії. Відсотковий склад культури нейронів (90,3 (88,5; 92,1)) (табл. 1), хоча і не сягає норми, але суттєво зростає відносно значень показників при моделюванні мікромеркуріалізму без протекції та з монотерапією мілдронатом та магне-В₆ (табл. 2). Індекс цитопатичних змін за живими клітинами (1,79 (1,75; 1,82)) більший за показник в усіх групах з моделюванням інтоксикації та з монотерапією. Індекси проліферації нейронів за всіма (1,09 (1,08; 1,11)) та за живими клітинами (0,99 (0; 0,99)), хоча і зберігають відмінності від контролю, але більші від інших груп порівнянь. Індекс проліферації за мертвими клітинами (0,11 (0,09; 0,13)) суттєво менший показників усіх груп порівняння,

хоча і залишається більшим контролем (табл. 3).

Вплив магне-В₆ з мілдронатом на клітини нейрогліальної лінії U-373

При вивченні клітин нейрогліальної лінії U-373 за умов спільної дії магне-В₆ та мілдронату визначається безпечність їх застосування. Величина відсоткового складу культури клітин нейрогліальної лінії (93,3 (93,2; 93,3)) (табл. 4) та індекс цитопатичних змін за живими клітинами (1,80 (1,80; 1,80)) менший за контроль, але наближається до його значень (табл. 5). Індекс цитопатичних змін за мертвими гліоцитами (0,14 (0,14; 0,14)) наближається до значення контролю, однак відмінності все ще зберігаються. Індекси проліферації за всіма (1,80 (1,78; 1,81)) та за живими гліоцитами (1,67 (1,66; 1,69)) більші від контрольних, індекс проліферації для мертвих клітин (0,12 (0,12; 0,12)) має незначні відмінності від контрольного показника (табл. 6).

За спільної корекції токсичної дії сулеми на культуру гліоцитів препаратами "Магне-В₆" та "Мілдронат" ефективність їх дії має виражений прояв. Відсоток живих клітин (90,9 (90,1; 90,7)) (табл. 4) та індекс цитопатичних змін за живими клітинами (1,76 (1,74; 1,77; n=4)) більший від значень показників при ртутній експозиції та застосування зазначених вище лікарських засобів, залишаючись незначно меншим за контроль (табл. 5). Індекси проліферації нейрогліальної культури за всіма (1,72 (1,71; 1,73)) та за живими (1,57 (1,54; 1,59)) клітинами суттєво більші, ніж за дії хлориду ртуті та його корекції мілдронатом чи магне-В₆. Індекс проліферації клітин нейрогліальних ліній за мертвими клітинами (0,16

(0,14; 0,17)), хоча і більший за контроль, але менше значень показника груп порівняння при вивченні без протекції та за монотерапією (табл. 6).

Аналіз та обговорення

Таким чином, мілдронат демонструє безпечність та ефективність при його впливі на клітини нейронів у концентраціях 10,0; 1,0 мг/мл, що дає змогу рекомендувати його для комбінованої терапії з іншими препаратами в таких концентраціях. При його впливі на клітини нейрогліальних ліній безпечність та ефективність спостерігається за дії концентрації 10,0; 1,0; 0,1; 0,01 мг/мл, що дає змогу рекомендувати його для комбінованої терапії з іншими препаратами.

При комбінованому застосуванні мілдронату з досліджуваними препаратами на культуру клітин нейрогліальної та нейрональної ліній спостерігається високий рівень їх антитоксичного ефекту, підсилений значним проявом безпечності цієї комбінації.

Висновки

Вивчення впливу мілдронату продемонструвало широкий діапазон доз препарату щодо безпечності.

При застосуванні комбінацій мілдронату з іншими антиоксидантами з'ясувалося, що при використанні унітіолу підсилюється безпечність, при дії тіотриазоліну та магне-В₆ відбувається підсилення їх антитоксичного ефекту та безпечність використання.

У подальших дослідженнях буде проведено вивчення впливу антиоксидантів на нервову тканину в умовах токсичної дії хлориду ртуті на електронномікроскопічному рівні.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кардіоваскулярні ускладнення цукрового діабету у дітей та їх медикаментозна корекція: автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. мед. наук: спец. 14.01.10 [Електронний ресурс] / В.Б. Фурдела; Терноп. держ. мед. ун-т ім. І.Я.Горбачевського. — Т., 2006. — 20 с.
2. Клініко-лабораторна оцінка перебігу вагітності при гіперфункції щитоподібної залози: автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. мед. наук: спец. 14.01.01 [Електронний ресурс] / І.В. Афанасьєв; Харк. держ. мед. ун-т. — Х., 2007. — 19 с.
3. Патогенетичне обґрунтування антиоксидантної та метаболічної терапії кардіоміопатії у комплексному лікуванні хворих на тиреотоксикоз: автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. мед. наук: спец. 14.01.02 [Електронний ресурс] / М.С. Зіміна; Харк. держ. мед. ун-т. — Х., 2007. — 18 с.
4. Сокурєнко Л. М. Использование исследований IN VITRO для изучения нейротоксичности ртути / Л. М. Сокурєнко, Ю. Б. Чайковский, Ю.И. Кудрявец // Материалы научной конференции с международным участием "Медицина труда. Здоровье работающего населения: достижения и перспективы" (Актуальные вопросы профпатологии). Санкт-Петербург, — 2009. — С.159 — 161.
5. Трахтенберг И.М. Проблема ртутной опасности и ее предупреждение / И.М. Трахтенберг // Ліки. — 2009. — №5(131). — С. 76 — 82.
6. Трахтенберг И.М. Морфологичні аспекти патогенезу ртутної інтоксикації/ І. М.Трахтенберг, Ю. Б.Чайковский, Л. М. Сокурєнко // Сучасні проблеми токсикології — 2008/ №1. — С.11 — 17.

Л.М. Сокурено, Ю.Б. Чайковский, Ю.И. Кудрявец

ЦИТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМБИНАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ РТУТНОЙ ЭКСПОЗИЦИИ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК НЕРВНОЙ ТКАНИ

Исследование влияния препарата милдронат на культуры нейроглиальной и нейрональной линий продемонстрировало широкий диапазон доз препарата относительно безопасности. При применении комбинаций милдроната с другими антиоксидантами выяснилось, что при использовании унитиола усиливается безопасность, при тиотриазолине и магне-В₆ происходит усиление антиоксидантного эффекта и безопасности использования.

Ключевые слова: интоксикация, хлорид ртути, микромеркуриализм, унитиол, тиотриазолин, магне-В₆, милдронат, культура клеток, нервная ткань, нейрон, нейроглиа.

L.M. Sokurenko, Yu.B. Chaikovsky, Yu.Y. Kudryavec

CYTOPROTECTIVE CHANGES OF DRUGS COMBINED INFLUENCE ON NERVOUS TISSUE CELLS CULTURE UNDER THE MERCURY CHLORIDE ACTION

The research of mildronatum influence on gliocytes and neurons cultures defined the wide range of preparation doses in relation to its safety. At application of mildronatum with other antioxidants combinations that safety increases at the use of unithiol, there is more intensive antitoxic effect and safety of tiotriazolinum and magne-B₆ usage.

Key words: intoxication, chloride of mercury, micromercurialism, unithiol, tiotriazolinum, magne-B₆, mildronatum, cell culture, nervous tissue, neuron, neuroglia.

Надійшла до редакції 16.04.10