
© Комнацька К.М., Черешнюк І.Л., Ходаківський О.А.

УДК: 615:27:615.015.13:577.17:591.484:599.325.1

Комнацька К.М.^{1,2}, Черешнюк І.Л.^{1,2,3}, Ходаківський О.А.^{1,4}

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Навчально-науково-дослідна лабораторія з доклінічної оцінки нових лікарських засобів та біологічно-активних сполук "Фармадар"¹, кафедра очних хвороб², науково-дослідний центр³, кафедра фармакології⁴ (вул. Пирогова 56, м. Вінниця, 21018, Україна)

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ВПЛИВУ МЕЛАТОНІНУ У РІЗНОМУ ДІАПАЗОНІ ДОЗ ТА ДЕЯКИХ ЦИТОПРОТЕКТОРІВ НА ДИНАМІКУ ВНУТРІШНЬО-ОЧНОГО ТИСКУ У КРОЛІВ В НОРМІ ТА ЗА УМОВ КОНТУЗІЇ ОКА

Резюме. У досліджах на кролях породи Шиншила в умовах контузії ока, викликаній дією потоку вуглекислого газу під тиском, встановлено, що мелатонін в широкому діапазоні доз (5-15 мг/кг в/в) амортизує падіння внутрішньоочного тиску (ВОТ), перевершуючи ефективність референс-препаратів цитиколіну, корвітину або тіотриазоліну. При цьому, як і препарати порівняння, мелатонін жодним чином не впливає на середні значення внутрішньоочного тиску при введенні тваринам без офтальмопатології. Здатність мелатоніну амортизувати падіння внутрішньоочного тиску, що є патогномонічним для травми ока, - один із провідних механізмів його нейроретинопротективної активності, який може бути пов'язаний із наявним у нього вазоактивним ефектом. Отримані дані створюють підґрунтя для проведення диференційованої нейроретинопротективної терапії, і, в залежності від патології, дають змогу обирати той чи інший препарат певною умовно-ефективною дозою.

Ключові слова: внутрішньоочний тиск, контузія ока, мелатонін, цитиколін, корвітин, тіотриазолін.

Вступ

Головним критерієм відбору за фармакодинамічним ефектом при скринінговій оцінці наявності та ве-

личини нейроретинопротекторної активності у біологічно-активних речовин - є спроможність претендента

сприяти нормалізації внутрішньочного тиску (ВОТ). Відомо, що при контузії ока середнього та важкого ступеня, відмічається нетривале підвищення ВОТ, яке згодом трансформується у гіпотонію, яка супроводжується ішемічно-гіпоксичним ураженням сітківки та зорового нерву [6].

У попередніх наших дослідженнях, присвячених вивченню наявності у мелатоніну захисної дії на зоровий аналізатор в умовах модельної контузії ока, встановлено, що даному препарату умовно-ефективною дозою 10 мг/кг, притаманна висока (вірогідно вища ніж у цитиколіну, тіотриазоліну та корвітину) нейроцитопротекторна активність, яка проявилась достовірною деескалацією сироваткових титрів нейронального маркера цитодеструкції - нейронспецифічної енолази [5]. Наявний захисний ефект мелатоніну дасть змогу застосовувати цей лікарський засіб (ЛЗ) як при офтальмогіпотензивних станах (травма, контузія), так і при офтальмогіпертензії (глаукома, у т. ч. травматичного ґенезу). При цьому важливо, щоб за фізіологічних умов препарат не впливав на середні значення ВОТ. У такому випадку, можливе диференційоване застосування ЛЗ в залежності від діагнозу та значень тиску. Зважаючи на це, для повноцінної характеристики нейроретинопротекторних властивостей мелатоніну, доцільним є вивчення його спроможності нормалізувати значення ВОТ, оскільки згідно даних літератури [8], вплив препарату на офтальмотонус у тварин різних видів (гризуни, котяті) в широкому дозовому діапазоні при парентеральних шляхах введення - суперечливий.

Метою дослідження було проведення порівняльної скринінгової оцінки впливу мелатоніну на ВОТ в нормі та в динаміці контузійної травми ока, як одного з можливих механізмів його нейроретинопротективної дії.

Матеріали та методи

Роботу виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт Вінницького національного медичного університету (ВНМУ) ім. М.І. Пирогова у рамках теми: "Доклінічна оцінка перспективних органопротекторів" (номер держреєстрації 00115U007126). Експерименти проведено на кролях-самцях породи Шиншила масою 3,0-3,6 кг. Усі тварини знаходились у віварії ВНМУ на стандартному водно-харчовому раціоні при природному освітленні та вільному доступі до води та корму. Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувались методичних рекомендацій Державного фармакологічного центру Міністерства охорони здоров'я України і вимог 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" [1].

Перший етап дослідження присвячено впливу мелатоніну ("Мелатонін" Sigma Chemical Co., St. Louis, США) дозами 5, 10 та 15 мг/кг та референс-препаратів: цити-

коліну 250 мг/кг ("Сомазіна", Ferrer International, S.A., Іспанія), корвітину 10 мг/кг ("Корвітин", Борщагівський ХФЗ, Україна) та тіотриазоліну 100 мг/кг ("Тіотриазолін", Артеріум, Україна) на нормальний офтальмотонус при їх курсовому 7-ми денному внутрішньовенному (в/в) введенні щодобово через кожні 12 год.

ВОТ вимірювали тонометром ICARE (Фінляндія). З метою виключення патології офтальмотонусу та стандартизації досліджень, кролів рандомізували за відсутності суттєвої асиметрії ВОТ між лівим та правим оком. Також, з урахуванням впливу циркадних ритмів на коливання ВОТ, експерименти проводили завжди в однаковий світловий проміжок доби. В кожній серії дослідів перед початком першого застосування препаратів обов'язково реєстрували значення ВОТ (фоновий рівень), який оцінювали в динаміці 1, 4 та 7-ої доби експерименту після останнього введення лікарських засобів.

Контузіїю ока у кролів, викликану дією потоку вуглекислого газу під тиском, створювали за власне розробленою моделлю [4]. Попередньо наркотизованим в/в пропофолом (40 мг/кг, Kabі, Австрія) кролям здійснювали впритул холостий постріл вуглекислим газом під тиском із газобалонного пістолета MP-654K (AT "Іжевський механічний завод", Росія) у центр роговівки [3, 4, 5]. Через годину - перше введення мелатоніну [7] та референтів. Групі контрольної патології вводили 0,9% розчин NaCl [3].

Кількісні дані обробляли за допомогою програми статистичної обробки StatPlus 2009. Використовували параметричний критерій t Стьюдента у випадках нормального розподілу варіаційного ряду, непараметричний критерій W. Уайта - за його відсутності, парний критерій \tilde{U} Вілкоксона - для визначення змін у динаміці всередині групи. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати. Обговорення

Семиденне окреме введення в організм кролів без офтальмопатології мелатоніну в різному діапазоні доз (5, 10 та 15 мг/кг), так само, як і референс-препаратів цитиколіну (250 мг/кг), корвітину (10 мг/кг) або тіотриазоліну (100 мг/кг) не мало впливу на показники ВОТ, а саме - вірогідних офтальмотонометричних змін ($p < 0,05$) відносно фонових (вихідних) значень, які були зареєстровані на початку експерименту (першого введення препаратів) не спостерігалось (табл. 1). Це доводить, що такі препарати можна без застережень застосовувати в якості нейропротекторів, не зважаючи на те яким ВОТ супроводжується та чи інша офтальмопатологія: підвищеним (офтальмогіпертензія) чи, навпаки, зниженим (офтальмогіпотензія).

Контузія ока у кролів, яка викликана дією потоку вуглекислого газу під тиском, супроводжується стабільним зниженням ВОТ зі слабкою, статистично недовірною, динамікою до подальшого зниження упро-

Таблиця 1. Динаміка внутрішньоочного тиску у кролів без офтальмопатології на тлі курсового семиденного внутрішньовенного введення мелатоніну, цитиколіну, корвітину або тіотриазоліну ($M \pm m$, $n=10$).

Препарати	Середні значення показників ВОТ у мм рт. ст., за 60 хв. о введення препаратів (фон)	Середні значення показників ВОТ у мм рт. ст., після останнього введення препаратів на відповідну добу		
		1	4	7
0,9% розчин NaCl (контроль), 2 мл/кг	7,2±0,3	7,4±0,3	7,2±0,3	7,3±0,3
Мелатонін, 5 мг/кг	7,3±0,3	7,4±0,4	7,3±0,3	7,3±0,3
Мелатонін, 10 мг/кг	7,5±0,3	7,3±0,3	7,3±0,3	7,5±0,3
Мелатонін, 15 мг/кг	7,3±0,4	7,2±	7,3±0,3	7,3±0,3
Цитиколін, 250 мг/кг	7,3±0,3	7,2±0,2	7,0±0,2	7,4±0,2
Корвітин, 10 мг/кг	7,3±0,3	7,1±0,2	7,2±0,3	7,3±0,3
Тіотриазолін, 100 мг/кг	7,3±0,3	7,2±0,2	7,3±0,3	7,1±0,3

Примітки: ВОТ - внутрішньоочний тиск.

Таблиця 2. Динаміка внутрішньоочного тиску у кролів за умов контузії ока на тлі курсового семиденного внутрішньовенного введення мелатоніну, цитиколіну, корвітину або тіотриазоліну ($M \pm m$, $n=10$).

Препарати	Середні значення показників ВОТ у мм рт. ст., за 60 хв. о введення препаратів (фон)	Середні значення показників ВОТ у мм рт. ст., після останнього введення препаратів на відповідну добу		
		1	4	7
0,9% розчин NaCl (контрольна патологія), 2 мл/кг	7,4±0,2	2,9±0,2*	2,8±0,1*	2,7±0,2*
Мелатонін, 5 мг/кг	7,3±0,2	4,0±0,2**□	4,1±0,2**□	4,0±0,2**□
Мелатонін, 10 мг/кг	7,3±0,3	5,0±0,2**#°5, 15	6,1±0,2**#°5, 15	6,7±0,2**#°5, 15
Мелатонін, 15 мг/кг	7,3±0,3	4,1±0,3**□	4,1±0,3**□	4,2±0,3**□
Цитиколін, 250 мг/кг	7,2±0,3	3,9±0,2**□	4,1±0,2**□	4,2±0,3**□
Корвітин, 10 мг/кг	7,3±0,2	4,5±0,1**#&	5,0±0,2**#&	6,0±0,17**#&
Тіотриазолін, 100 мг/кг	7,1±0,2	3,5±0,1**	3,5±0,2**	3,6±0,2**

Примітки: ВОТ - внутрішньоочний тиск, в/в - внутрішньовенно; * - $p < 0,05$ відносно фону; # - $p < 0,05$ відносно контрольної патології; □ - $p < 0,05$ відносно тіотриазоліну; & - $p < 0,05$ відносно цитиколіну; ° - $p < 0,05$ відносно корвітину; 5 - $p < 0,05$ відносно мелатоніну дозою 5 мг/кг; 15 - $p < 0,05$ відносно мелатоніну дозою 15 мг/кг.

довж наступних 7-ми діб. Так, в кінці першої доби після моделювання контузії, середні значення ВОТ були нижчими відносно фонових (вихідних) значень в середньому на 60,8%, а в наступні строки, відповідно на 4-ту та 7-му добу експерименту деескалація відносно фону становила 62,1 та 63,5%, $p < 0,05$.

Проведене дослідження показало, що в умовах експериментальної контузії ока, всі досліджувані препарати проявили спроможність підвищувати знижений ВОТ, проте сила такого ефекту у них достовірно відрізнялась. Найбільший коригувальний вплив на динаміку ВОТ проявив мелатонін умовно-ефективною нейропротективною дозою 10 мг/кг. Так, в кінці першої доби, коли вже двічі здійснено лікувальне введення мелатоніну з інтервалом 12 год, ВОТ був вірогідно вищим відносно середніх значень досліджуваного показника в аналогічному періоді у групі контрольної патології в середньому на 72,4%. В подальшому, на 4-ту та 7-му добу експерименту приріст середніх значень ВОТ відносно аналогічного показника у кролів групи контрольної патології на тлі терапії мелатоніном дозою 10 мг/кг становив відповідно 117,9

та 148,2%, $p < 0,05$. Аналіз офтальмогіпертензивної активності мелатоніну в умовах постконтузійної гіпотонії ока, показав, що його застосування дозами меншими, або більшими за умовно-ефективну 10 мг/кг, проявляє вірогідно менший коригувальний вплив на ВОТ. За своїм офтальмогіпертензивним ефектом дози 5 та 15 мг/кг не мали між собою достовірних відмінностей в жодний період спостереження, проте така відмінність прослідковувалась у випадку застосування дози 10 мг/кг. Так, на 1-шу, 4-ту та 7-му добу в/в введення мелатоніну в умовах контузії ока у кролів дозою 5 мг/кг супроводжувалось підйомом ВОТ відносно тварин групи контрольної патології в середньому на 37,9, 46,4 та 48,1%, поступаючись за гіпертензивним ефектом активності дози 10 мг/кг в середньому на 25,0, 48,7 та 67,5%, $p < 0,05$. Аналогічним чином ситуація склалась при застосуванні мелатоніну дозою вищою за умовно-ефективну. Так, при введенні мелатоніну дозою 15 мг/кг на 1-шу, 4-ту та 7-му добу терапії, середні значення ВОТ перевершували відповідні показники у кролів групи контрольної патології в середньому на 41,4, 46,4 та 55,6%, що було меншим ніж на тлі засто-

сування мелатоніну дозою 10 мг/кг в середньому на 22,0, 48,8 та 59,5%, $p < 0,05$ (табл. 2).

Серед препаратів порівняння, за спроможністю амортизувати падіння ВОТ відносно контрольної патології найбільш ефективним у всі часові відрізки виявився корвітин, семиденна терапія яким сприяла вірогідному зростанню ВОТ відносно цитиколіну та тіотриазоліну в середньому відповідно на 42,8 та 66,7%, поступаючись при цьому за досліджуваним параметром мелатоніну дозою 10 мг/кг в середньому на 11,7%, $p < 0,05$.

Таким чином, проведене дослідження показало здатність мелатоніну амортизувати падіння ВОТ, що є патогномонічним для травми ока - один із провідних механізмів його нейроретинопротективної активності, який може бути пов'язаний з наявним у нього вазоактивним ефектом.

Список літератури

1. Надлежащая производственная практика лекарственных средств /Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загоря, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой. - К.: МОРИОН, 1999. - 896с.
2. Недзвецькая О.В. Неотложная помощь при ранениях и контузиях органа зрения и его придаточного аппарата (Лекция-конспект для врачей неотложной помощи, семейных врачей, интернов, врачей-офтальмологов) /О.В. Недзвецькая //Медицина неотложных состояний. - 2015. - №4. - С.9-21.
3. Пат. на корисну модель № 109424 Україна МПК А61К 31/00 А61Р 27/02 Застосування цитопротекторів, вибраних з ряду цитиколіну, мелатоніну, мексидолу, корвітину, тіотриазоліну та розчину сульфату магнію, як нейроретинопротекторів /І.Л. Черешнюк, В.Л. Повх, К.М. Комнацька, О.А. Ходаківський; замовник і патентовласник І.Л. Черешнюк, В.Л. Повх, К.М. Комнацька, О.А. Ходаківський, О.А. Ходаківський, С.В. Прокопенко //Світ медицини та біології. - 2016. - №4. - С.105-109.
4. Пат. на корисну модель № 109789 Україна МПК А61F 9/00/Спосіб моделювання контузії ока для скринінгової оцінки нейроретинопротективної активності лікарських засобів та біологічно активних речовин /І.Л. Черешнюк, К.М. Комнацька, В.Л. Повх, О.А. Ходаківський; замовник і патентовласник І.Л. Черешнюк, К.М. Комнацька, В.Л. Повх, О.А. Ходаківський. - № у 201601524; заявл. 19.02.16; опубл. 12.09.16, Бюл. №17, 2016р.
5. Скринінг наявності та порівняльна оцінка величини нейроретинопротекторного ефекту серед деяких препаратів з антиоксидантною дією або модулювальною активністю на формування глутаматної ексайтотоксичності /К.М. Комнацька, І.Л. Черешнюк, О.А. Ходаківський, С.В. Прокопенко //Світ медицини та біології. - 2016. - №4. - С.105-109.
6. Травмы глаза /Под общ. ред. Р.А. Гундоровой, В.В. Нероева, В.В. Кашникова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. - 560с.
7. Melatonin Reduces the Expression of Excitotoxicity-Triggered Markers of Apoptosis /H. Manev, T. Uz, A. Kharlamov [et al.] //Therapeutic Potential of Melatonin. - 1997. - Vol.23. - P.89-98.
8. Osborne N. N. Serotonin and melatonin in the iris/ciliary processes and their involvement in intraocular pressure / N.N. Osborne //Acta Neurobiol. Exp. - 1994. - Vol.54. - P.57-64.
9. Simone F. Biotechnology, animal health and animal welfare within the framework of European Union legislation / F. Simone; J. Serratos // Rev. Sci. Tech. Oie. - 2005. - Vol.24, №1 - P.89-99.

Комнацька Е.Н., Черешнюк І.Л., Ходаковський А.А.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ МЕЛАТОНИНА В РАЗЛИЧНОМ ДИАПАЗОНЕ ДОЗ И НЕКОТОРЫХ ЦИТОПРОТЕКТОРОВ НА ДИНАМИКУ ВНУТРИГЛАЗНОГО ДАВЛЕНИЯ У КРОЛИКОВ В НОРМЕ И В УСЛОВИЯХ КОНТУЗИИ ГЛАЗА

Резюме. В опытах на кроликах породы Шиншилла в условиях контузии глаза, вызванной действием потока углекислого газа под давлением, установлено, что мелатонин в широком диапазоне доз (5-15 мг/кг в/в) амортизирует падение внутриглазного давления, превосходя по своей эффективности референс-препараты цитиколлин, корвитин или тиотриазолин. При этом, как и препараты сравнения, мелатонин никоим образом не влияет на средние значения внутриглазного давления при введении животным без офтальмопатологии. Способность мелатонина нивелировать падение внутриглазного давления, которое является патогномоничным для травмы глаза, является одним из ведущих механизмов его нейроретинопротекторной активности, который может быть связан с имеющимся у него вазоактивным эффектом. Полученные данные создают основу для проведения дифференцированной нейроретинопротекторной терапии и, в зависимости от патологии, дают возможность выбирать тот или иной препарат определенной условно-эффективной дозой.

Ключевые слова: внутриглазное давление, контузия глаза, мелатонин, цитиколлин, корвитин, тиотриазолин.

Komnatska K.M., Chereshniuk I.L., Khodakivskyi O.A.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE MELATONIN'S EFFECT AT DIFFERENT DOSE RANGE AND OF SOME CYTOPROTECTORS ON THE DYNAMIC OF RABBITS' INTRAOCULAR PRESSURE IN NORMAL CONDITIONS AND UNDER CONTUSION OF THE EYE

Summary. *In experiments on rabbits of the Chinchilla breed in conditions of eye contusion caused by the action of carbon dioxide under pressure established that the melatonin in a wide dose range (5-15 mg/kg intravenous) amortizes the lowering of IOP in eye contusion conditions, surpassing the effectiveness of referents drugs: citicoline, corvitin or thiotriazoline. In this case, as the drugs of comparison, melatonin does not affect the average values of IOP in its applying to animals without ophthalmic pathology. The ability of melatonin to amortize decreasing of intraocular pressure, that is pathognomonic for eye injury, is one of the leading mechanisms of its neuroprotective activity that may be associated with existing vasoactive effect. The obtained data form the basis for differentiated neuroretinoprotective therapy and, depending on the pathology, allow to choose one or the other drug to a certain conditionally effective dose.*

Key words: *intraocular pressure, contusion of eye, melatonin, citicoline, corvitin, thiotriazoline.*

Рецензент - д.мед.н., проф. Волощук Н.І.

Стаття надійшла до редакції 28.12.2016

Комнацька Катерина Миколаївна - асистент кафедри очних хвороб ВНМУ ім. М.І.Пирогова, ст. лаборант Навчально-науково-дослідної лабораторії з доклінічної оцінки нових лікарських засобів та біологічно-активних сполук "Фармадар"; +38(063)9744525; komnatskaya88@mail.ru

Черешнюк Ігор Леонідович - к.мед.н., ст.наук.співроб. науково-дослідного центру ВНМУ ім. М.І. Пирогова, асистент кафедри очних хвороб; +38(068)2102101; vsmulab@gmail.com.

Ходаківський Олексій Анатолійович - д.мед.н., зав. науково-дослідної лабораторії з доклінічної оцінки нових лікарських засобів та біологічно-активних сполук "Фармадар", Радник Генерального директора по науці фармацевтичної фірми "Дарниця", професор кафедри фармакології ВНМУ ім. М.І. Пирогова; +38(098)7910533; aleksey.hodakovskiy@bk.ru
