

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

СЕМЕНЕНКО СВЯТОСЛАВ ІГОРОВИЧ

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

**«ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ
МОДУЛЯТОРА NMDA-РЕЦЕПТОРІВ В ЯКОСТІ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРА
ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ
ДОСЛІДЖЕННЯ)»**

14.03.05 – фармакологія

Реферат

дисертації на здобуття наукового ступеня

доктора медичних наук

Одеса-2024

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор **Беленічев Ігор Федорович**, завідувач кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, м. Запоріжжя

доктор медичних наук, професор **Жилюк Володимир Іванович**, професор кафедри фармакології Дніпровського державного медичного університету, м. Дніпро

доктор медичних наук, професор **Нефьодов Олександр Олександрович**, професор кафедри фармакології та технології ліків Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова, м. Одеса

Захист відбудеться 25 вересня 2024 р. о 10.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 41.600.01 при Одеському національному медичному університеті МОЗ України за адресою: 65082, м. Одеса, вул. Ольгіївська, 13, зала приймальної комісії ОНМедУ.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Одеського національного медичного університету МОЗ України (65082, м. Одеса, Валіховський пров., 3).

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доктор медичних наук, професор

Петро АНТОНЕНКО

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. 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 загибелі нейрону як структурно-функціональної одиниці центральної нервової системи (ЦНС), ще досі не створено. Зокрема, залишаються дискусійними питання щодо ефективності, раціональності та безпечності 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. Результати майже двох сотень останніх оприлюднених Міжнародних рандомізованих клінічних досліджень, щодо ефективності церебропротекторів із різноманітним впливом на ключові патобіохімічні ланки ішемічного каскаду пошкодження головного мозку (ГМ), починаючи від активації NMDA-рецепторів, закінчуючи реалізацією апоптотичних і некробіотичних програм нейрональної смерті, виявились невтішними, оскільки ефективність жодного з них не відповідала високим критеріям доказової медицини. 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 [ESO, 2021 2019; Stroke Center Certification. Waldman A 2020]. Це твердження є справедливим і для ЧМТ, оскільки ішемічно-гіпоксичний фактор є спільним для всіх деструктивно-дегенеративних уражень ЦНС.

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. Попри невдале 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 нейрональних клітин в умовах церебральної ішемії, у т.ч. і трагічного 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.

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 ГМ у вже відомих лікарських засобів з впливом на ЦНС, що є значно дешевшим з економічної точки зору.

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

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

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: захисна дія адемолу не тільки зіставляється, а й подекуди переважає ефективність цитиколіну, пірацетаму, мексидолу, актовегіну, тіотриазоліну та корвітину.

Результати досліджень останніх років показали, що первинною та провідною ланкою, функціонування якої забезпечує реалізацію усього комплексу нейроцитопротекторних механізмів адемолу, є його спроможність, як модулятора поліамінового сайту NMDA-рецепторів перешкоджати глутаматній ексайтотоксичності без розвитку побічних реакцій, що притаманні повним блокаторам N-метил-D-аспаратного сайту. 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. Невивченим залишається питання можливості впливу адемолу 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, доказово впливав на зменшення летальності та інвалідації пацієнтів з травматичним пошкодженням ГМ.

Малодослідженими або однобічно висвітленими є питання впливу адемолу на формування стероїдної нейротоксичності, яка приходить на зміну глутаматної ексайтотоксичності. Описані стреспротекторні властивості адемолу (актопротекторна дія), що дає змогу сподіватись на наявність у нього і антинейростероїдної дії в умовах ЧМТ. Також цікавою є оцінка впливу адемолу на особливості патобіохічного 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.

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 дослідження. 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.

Завдання дослідження:

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 адемомол 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 отриманих результатів. Вперше змодельовано власну експериментальну модель черепно-мозкової травми різних ступенів важкості у щурів (Пат. 144919 Україна, МПК G09 B 23/28; Пат. 145038 Україна, МПК А 61 В 17/00, G 09 В 23/28, G 01 № 33/48.) Вивчено та обґрунтовано 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.

В роботі деталізовано та патогенетично обґрунтовано 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.

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 якнайкраще коригувати порушення при травматично пошкодженню головному мозку. 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) базуються на усуненні: енергодефіциту, метаболічного ацидозу, зменшенні набряку та нейродеструкції мозку, корекції антиоксидантно-оксидантної системи, збереженні цитоархітекtonіки ГМ, зменшенні апоптозу.

Виготовлено назальну форму лікарського засобу, що містить адемол. 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 адемол для перевірки її ефективності в лікуванні цереброваскулярної патології.

Практичне значення отриманих результатів. 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 B 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 «Адемол» 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.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням здобувача, який особисто провів патентноінформаційний пошук, здійснив планування роботи, визначив мету і завдання дослідження, методичні підходи, опрацював моделі, згідно з якими виконано переважну частину експериментальних досліджень. Автор сформував групи дослідження, підібрав та обґрунтував способи нейропротекції при ЧМТ, на підставі проведених експериментальних досліджень проаналізував та узагальнив отримані результати, провів статистичну обробку одержаних результатів, оформив їх у вигляді таблиць і рисунків, сформулював основні положення та висновки. Автором написано й оформлено всі розділи дисертації, наукові публікації і реферат. У всіх наукових працях, що містять результати дисертаційних досліджень, використано матеріал, який автор отримав під час виконання роботи. У публікаціях за співавторства автору належить фактичний матеріал і основний творчий доробок. У дисертації не використано ідеї та розробки, що належать співавторам наукових публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи було представлено та обговорено 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 «Тріщинські 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-практичному 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-практичній 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-практичній конференції «Клінічна фармакологія сьогодні: шляхи максимальної допомоги лікарській спеціальності» (2023 року, м. Вінниця).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 36 праць, з них 23 статті у фахових наукових виданнях, 2 деклараційних патенти України на корисну модель, 11 тез доповідей у матеріалах з’їздів і конференцій.

Структура та обсяг 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.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Оцінку церебропротекторних властивостей Адемолу та референсних препаратів проведено на 260 щурах-самцях лінії Вістар масою 160-190 г. 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 (атестат акредитації вимірювальної лабораторії серія КДЛ № 002087) та Науково-дослідній лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку ВНМУ ім. М.І. Пирогова (свідоцтво МОЗ України про переатестацію №003/10). Будь-які травматичні маніпуляції, як і етаназію тварин шляхом декапітації виконували в умовах пропофолового («Fresenius Kabi», Австрія) наркозу (60 мг/кг внутрішньоочеревинно (в/о), або внутрішньовенно (в/в)).

За день до початку дослідження всі тварини оглядались кваліфікованим ветеринаром. В дослідження включались тільки здорові тварини. Рандомізація в групи відбувалась за списком або методом мінімізації відмінностей за масою. Тварин розподілені на групи, по 20 особин кожна.

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 власною 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 CO₂ – 12 г) під тиском (Crosman, США, № серії 456739). Постійність тиску CO₂ 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 Х 741 (Україна). При цьому було встановлено, що при використанні балонів вуглекислого газу (t повітря = 19 С⁰, P_{атм} = 720-755 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 ЧМТ в однакових умовах у всіх серіях, 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) (рис.1).



Рис. 1. Експериментальна ЧМТ, викликана дією потоку вуглекислого газу під тиском

Щурам в умовах прополового 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.

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 [Ходаковський А. А., 2013; Чекман І.С., Губський Ю.І., Беленичев І.Ф. и др., 2010]. Для здійснення інфузійної терапії, перед моделюванням ЧМТ, проводили катетеризацію стегнової

вени. Після кожної інфузії, 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) [Ходаківський О.А., 2014] («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 та не проявляє церебропротекторної активності.

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, відповідно для магнію сульфата: 250 мг/кг та амантадину сульфат: 10 мг/кг 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. Первинними критеріями церебропротекторної ефективності при терапії Адемолем та референс-препаратами обрано термін загибелі щурів (у годинах), їх летальність (у %) та динаміка неврологічного статусу.

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 [McGrow С. Р., 1977]. Тяжкість стану визначали за сумою відповідних балів: до 3 балів – легкий ступінь, від 3 до 7 балів – середній ступінь, вище 7 балів – тяжкий ступінь. 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) [Буреш Я., 1991]. 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 визначення ефективності досліджуваних препаратів 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 кровообігу в мл/хв [Семененко А. І. 2014]. 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 (рис.2) [А. І. Семененко, Б. О. Кондрацький, Ю. Ю. Кобеляцький 2014].

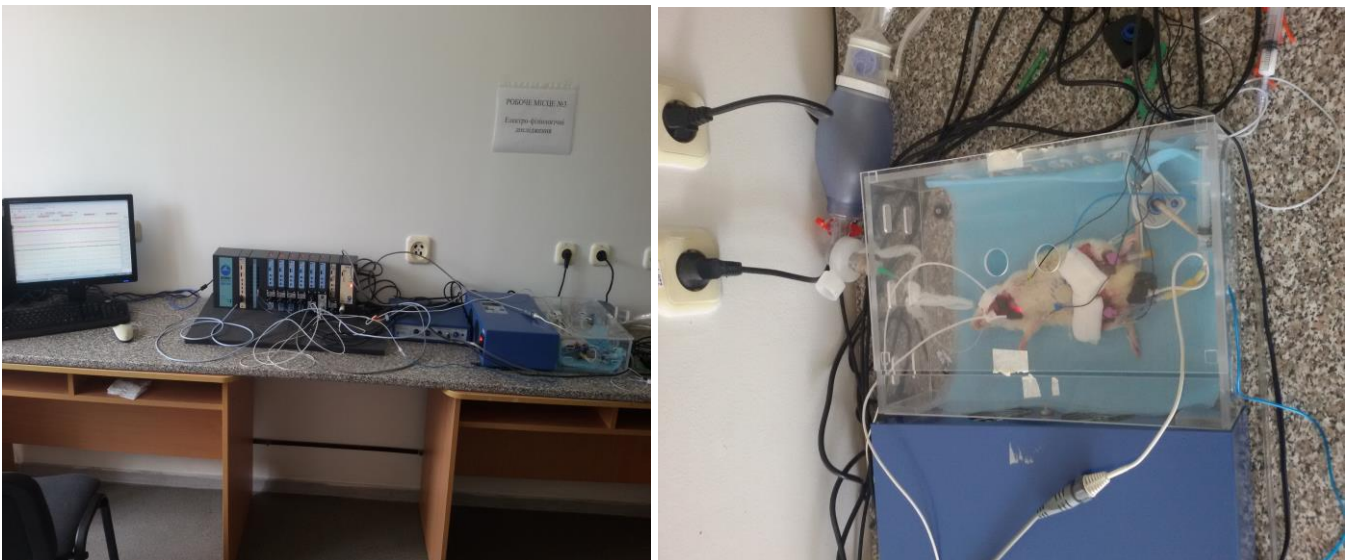


Рис. 2 Вимірювання динаміки ОШМК, ЦВТ, та АТ

Серед лабораторних тестів, які використовувалися для визначення ефективності досліджуваних ЛЗ оцінювали 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). 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». 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). Зміни метаболічних показників в ішемізованих темпоральних частках ГМ щурів також оцінювали у вищевказаний період. У декапітованих тварин через 60 хв після останньої ін'єкції досліджуваних речовин вилучали ГМ, 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 [Кочетов Г. А., 1980], малонового діальдегіду (МДА) - за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [Владимиров Ю. В., Арчаков А. И., 1972], карбонільних груп білків (КГ) - за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином [Заїчко Н. В. 2003]. Вміст пірувату та лактату-калориметричним методом Асатиани В.С.

Вміст аденілових нуклеотидів досліджували у безбілковому трихлороцтовому екстракті тканин ГМ 1:10 (10% розчин трихлороцтової кислоти) хроматографічним методом [Прохорова М. И., 1972]. Активність супероксиддисмутази (СОД) оцінювали за відсотком гальмування окиснення кверцетину [Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. В., 1990], а каталази - за швидкістю деградації гідроген пероксиду [Королук М. А. и др., 1988]. Активність глутатіонпероксидази (ГПО) визначали спектрофотометричним методом за накопиченням окисненого глутатіону [Trinity, 2016].

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 (NO_2^-) після інкубації постядерного супернатанту гомогенату мозку протягом 60 хв. у середовищі, 1 мл якого містив 50 мМ KH_2PO_4 -NaOH-буфер (pH 7,0), 1 мМ MgCl_2 , 2 мМ CaCl_2 , 1 мМ НАДФН, 2,2 мМ L-аргініну [Гула Н. М., Косякова Г. В., Бердишев А. Г., 2007].

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

Протоковий аналіз фрагментації ДНК та динаміку морфологічних змін (маркер нейроапоптозу) проводили на моделі ЧМТ за аналогічною схемою (Рис.3). Оцінку рівня фрагментації ДНК в ядрах нейронів правих лобових часток кори ГМ 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 [Ходаківський О. А., Черешнюк І. Л., 2013]. На 8 добу ЧМТ вилучали уражені частки кори ГМ. 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 ГМ щурів готували негайно після забору матеріалу та промивки холодним (+4 – +8°C) фосфатно-сольовим 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 ГМ щурів на тлі курсової терапії ЧМТ проводилось на базі ВОПАБ Вінницької обласної Ради (директор Гресько М.С.), шляхом вилучення матеріалу для дослідження (головного мозку щура) на 8 – му добу експерименту. 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 нейроцитів сенсомоторної зони кори великих півкуль ГМ та гіпокампульних 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 груп - 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.

При мікроскопії гістологічних препаратів та вивченні отриманих цифрових зображень оцінювали структуру уражених тканин ГМ, а саме стан судин мікроциркуляторного русла та нейроцитів, 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 ГМ

вивчався за допомогою імерсійної мікроскопії (збільшення 1000). Підрахунок структурних елементів здійснювався не менше ніж в 10 полях зору.

Методики хемоінформатики та біоінформатики 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 *in silico* за енергією зв'язування (метод біоінформатики).

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 *Molinspiration Cheminformatics v2016.09*, 2016 (Університет Братислави, Словаччина), доступних *on-line* [Calculation of Molecular Properties and Bioactivity Score / Molinspiration Cheminformatics 2012]. 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. Методи біоінформатики: докінг *in silico* на молекулярній мішені клонованого бета-1-адренорецептора індички (PDB ID 2vt4). Скринінг *in silico* складався з чотирьох основних етапів: підготовки бібліотеки лігандів, докінгу, оцінки результатів та процедури фільтрації.

Термогравіметричні дослідження проведено на приладі дериватограф - «Shimadzu DTG-60» (Японія) з платиново-платинородієвою термопарою при нагріванні зразків в алюмінієвих тиглях (від 15 до 250 °С). В якості еталонної субстанції використовували α -Al₂O₃. Швидкість нагрівання складала 10°C за хвилину. Вивчали окремі інгредієнти - АФІ: адемола; 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 Т (зміна температури), ДТА (диференціювання теплових ефектів, ендотермічні та екзотермічні максимуми), TGA (зміна маси зразка).

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 адемола, 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. 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 , Pas(mPas)). Доклінічні дослідження інтраназальної форми адемола 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». 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.

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. Експериментальні тварини піддавалися субокципітальній пункції під загальним наркозом (тіопентал натрію 30 мг/кг). Модель СК була розроблена на основі методу Dudhani RV та ін [Dudhani RV, Kyle M, Dedeo C, Riordan M, Deshaies EM. На низькій mortality rat model до assess delayed cerebral vasospasm після experimental subarachnoid hemorrhage. *J Vis Exp.* 2013; (71): e4157. Published 2013 Jan 17. doi:10.3791/4157], але при цьому аутокров вводили тільки один раз.

Дослідження проводили на базі відділу експериментальної патофізіології та функціональної морфології Навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету. 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 $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. 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 [Ю.Г. Шанько, Н.И. Нечипуренко, А.Н. Наледько, Н.Ю. Щербина [и др.] 2014].

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 [Крылов В.В. 2013].

Стимулом для вивчення та поглибленого дослідження церебропротекторної дії адемоу 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 [Ходаківський О.А. 2011.].

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.].

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.

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) [Е. В. Григорьев, Г. В. Вавин, Т. Г. Гришанова 2010].

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 відповідала тяжкій експериментально змодельованій ЧМТ.

Для визначення наявного неврологічного дефіциту у щурів різних груп із ЧМТ використовували шкалу stroke-index С.Р. McGraw [McGraw С. Р., 1977]. У всіх групах спостереження ЧМТ у щурів викликала тяжкі неврологічні зміни: паралічі, парези, птоз із максимальним проявом на 24 год. Моделювання експериментальної ЧМТ 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, 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 $9,1 \pm 0,27$.

Для подальшого вивчення дії основного досліджуваного фармакологічного засобу, а саме сполуки 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (Адемом) та порівняльної оцінки дії Адемолу та референтних препаратів: амантадину сульфату, магнію сульфату була використана модель ЧМТ лише важкого ступеня тяжкості. 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.

Упродовж 8 діб модельної ЧМТ на фоні лікування адемомом 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 для даного патологічного стану. Порівняльний аналіз використання різних доз 0,9% NaCl при ЧМТ (група контрольної патології), 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. 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.

За показником виживання тварин із ЧМТ, адемомол 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.

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. McGraw [McGraw С. Р., 1977]. 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. Варто зазначити, що застосування 0,9% розчину NaCl протягом 8 діб не спричиняло зменшення летальності та неврологічного дефіциту відповідно. Аналіз ефективності застосування розчину адемомолу на 8 добу ЧМТ спостереження, показав вірогідне динамічне зменшення неврологічного дефіциту, яке достовірно переважало дію розчину 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).

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 [Буреш Я., 1991]. Так, застосування розчинів амантадину та магнію сульфату при ЧМТ дещо покращувало пам'ять, але поступалась за ефективністю адемомолу, який краще наближав показники тесту УРПУ до результатів псевдооперованих тварин. Латентний період УРПУ у тварин, які отримували адемомол 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. Тому для подальших експериментальних досліджень було прийнято рішення залишити лише один препарат порівняння – амантадину сульфат.

Аналіз використання адемомолу 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 адемомолу 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 відносно 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 ($p < 0,05$).

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 адемолу 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+адемолу.

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 аденилових нуклеотидів. 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 (P₅-P₉₅), відповідно. За ефективністю коригувати енергетичний обмін в мозку щурів референс-препарат амантадин сульфат значно поступався адемолу (p<0,05).

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. Застосування 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: 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.

За умов експериментальної ЧМТ в структурах головного мозку щурів реєструється гіперактивація вільнорадикального окиснення ліпідів біомембран. 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 адемолу 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 адемола 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 адемолом 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.

Експериментальне моделювання травматичного ураження головного мозку супроводжувалось розвитком в його структурах пертурбацій в системі L-аргінін / NO-синтаза. Використання досліджуваних фармакологічних засобів на фоні ЧМТ попереджує виснаження в мозку запасів амінокислоти L-аргініну та гіперактивацію NO-синтази, причому за вказаним ефектом адемолом перевищував ефективність амантадину сульфату. В групі тварин з ЧМТ, яким застосовували адемолом 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. Отже, серед нейроцитопротекторних властивостей адемола 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.

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 адемолом 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 адемолом, активність якого реалізується також через пригнічення розвитку запальної реакції в тканинах ГМ.

ЧМТ у щурів супроводжується розвитком нейродеструктивних змін в ГМ, 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 адемолом та амантадин сульфат, вміст NSE в сироватці крові був на 52,1 та 29,0 % відповідно менший, ніж в групі контрольної патології, за вказаним ефектом адемолом перевищував амантадин сульфат ($p < 0,05$).

ЧМТ у щурів викликає інтенсивну нейрогліопроліферацію та нейроапоптоз. У нелікованих тварин з ЧМТ відмічалось зростання вмісту білка S100 в сироватці крові, що перевищувало відповідні показники псевдооперованих тварин у 7,5 рази ($p < 0,05$). Аналіз отриманих 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 адемоу 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%.

Виявилось, що ЧМТ у щурів має депримуєчий вплив на продукцію мозкового нейротрофічного фактору (BDNF), 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 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.

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%. Оцінюючи вказане зростання фрагментації ДНК у групі контрольної патології, можна говорити про процес інтенсивного формування посттравматичного вогнища саме за рахунок нейроклеток, які перебувають у стані апоптотичної смерті (Рис.3). Застосування адемоу на тлі ЧМТ патогенетично зменшує виразність нейродеструктивних процесів, знижує активність нейрогліопрولیферації та нейроапоптозу, а також стимулює репаративні процеси у головному мозку.

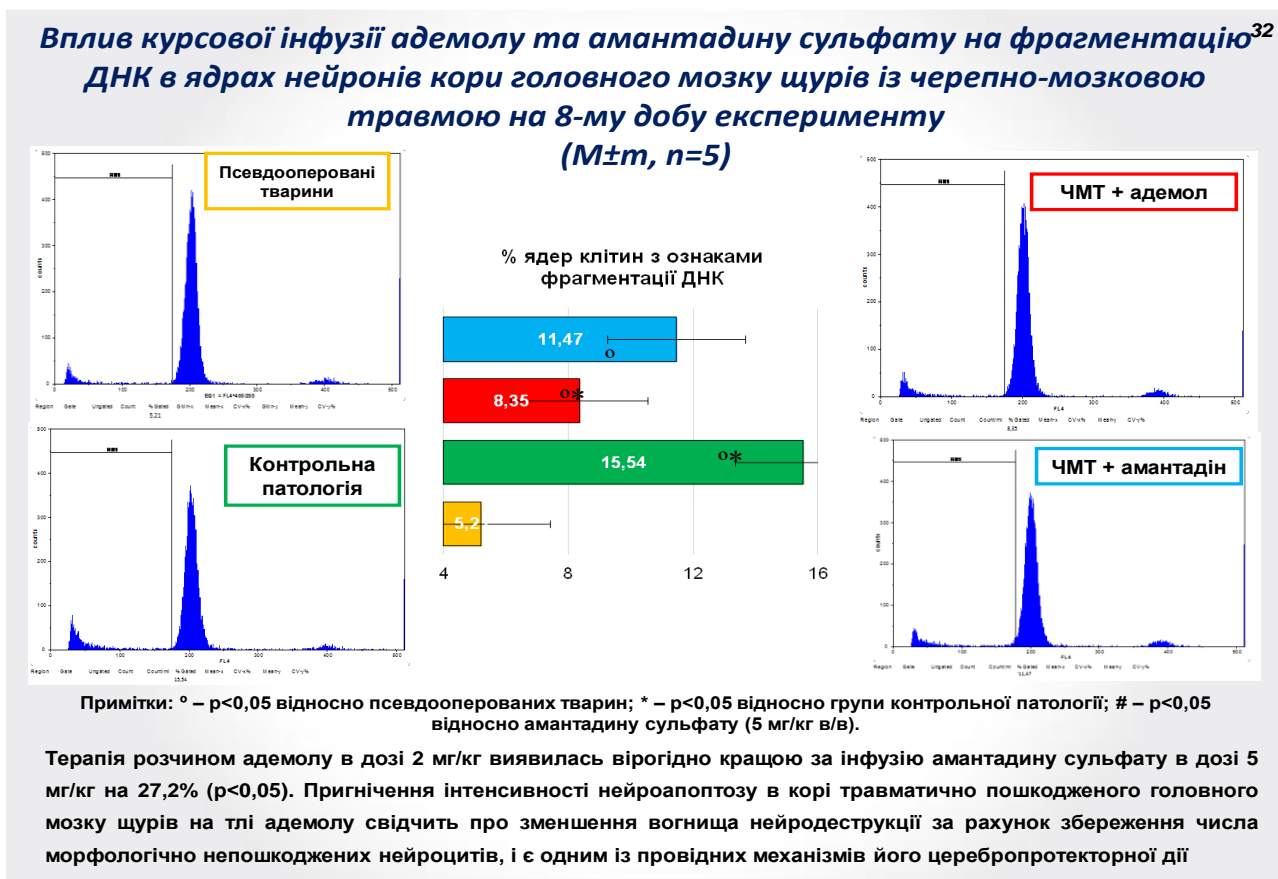


Рис. 3. Протоковий аналіз фрагментації ДНК

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 кровообігу 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 адемолу корегувати підвищені значення ВЧТ, можна пояснити специфічними для нього структурними та рецепторними особливостями. Молекула 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) 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 феноксипропаноламінною будовою. Блокада β -адренорецепторів судинних сплетень шлуночків м'якої мозкової оболонки призводить до зниження ВЧТ за рахунок зменшення продукції ліквору. Наявність лікворогіпотензивного ефекту адемолу ми пов'язуємо саме з β -адреноблокувальними властивостями. 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.

Використовуючи комплекс методів хемоінформатики, зокрема, метод «BOILED-Egg» встановлено, що адемола - препарат із високою біодоступністю, яка забезпечує можливість внутрішньовенного введення. Адемола 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) адемола займає проміжне місце між пропранололом та тімололом, причому, обидва останніх знижують підвищений ВЧТ.

Динаміка морфологічних змін в структурах ГМ щурів на тлі курсової терапії ЧМТ досліджуваними розчинами проводилось шляхом вилучення матеріалу для дослідження (головного мозку щура) на 8 – му добу експерименту (Рис. 4). При морфологічному дослідженні сенсомоторної ділянки кори великих півкуль та ділянки Са1 гіпокампу ГМ 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 СА1 піддослідних тварин на першому плані постають значні порушення гемодинаміки. Порушення мікрогемодинаміки 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.

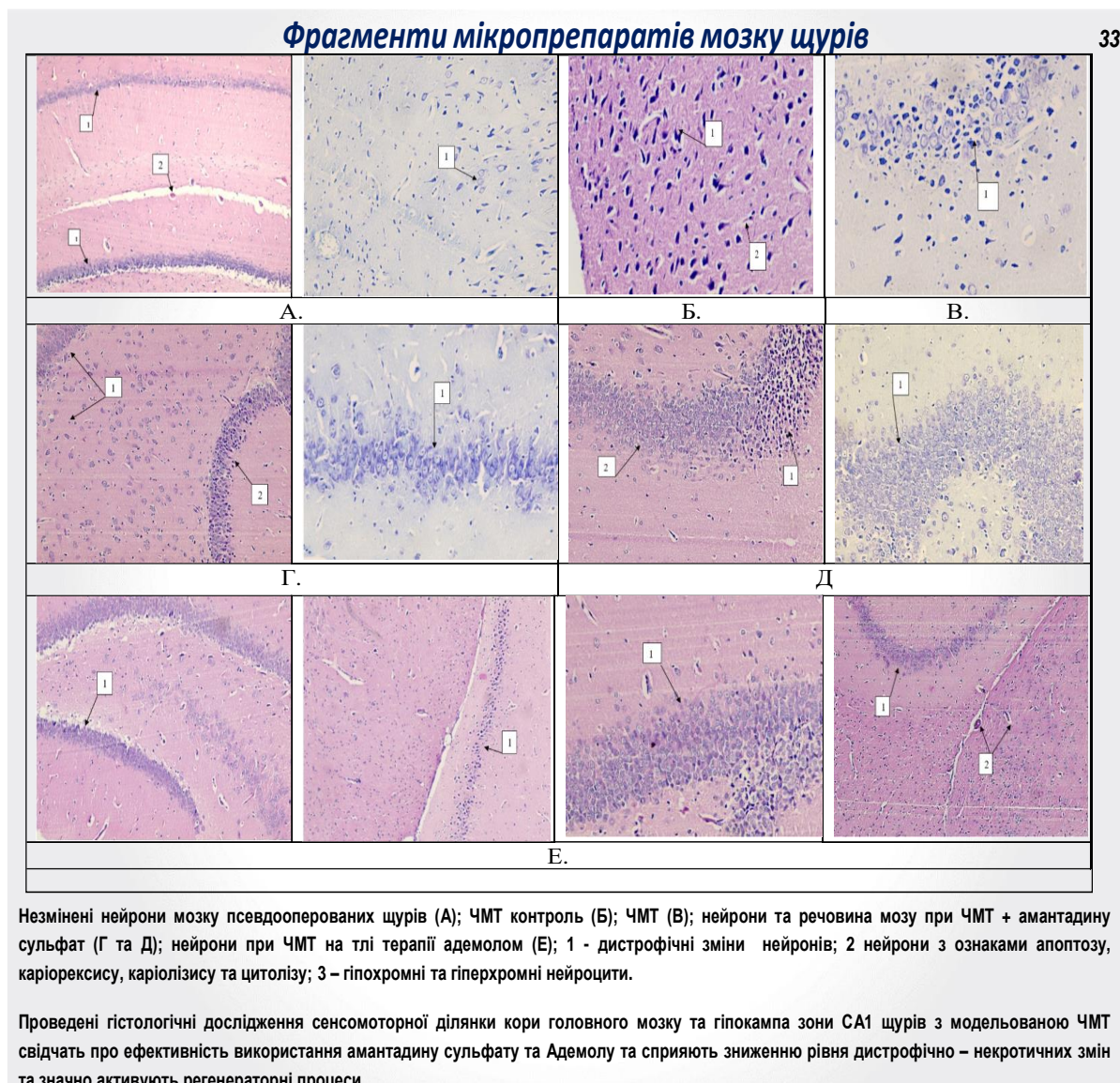


Рис. 4. Фрагменти мікропрепаратів мозку щурів при ЧМТ

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 ГМ, 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 псевдоперованих щурів.

На 8 – му добу моделювання ЧМТ у щурів, які щоденно отримували інфузію препарату Адемолу, патоморфологічні зміни в структурах сенсомоторної кори та зоні СА1 гіпокампа ГМ, 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 ядра. Структура нейронів була візуально подібна до морфологічної картини псевдооперованих шурів.

Проведені гістологічні дослідження сенсомоторної ділянки кори ГМ та гіпокампа зони СА1 шурів 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.

Вивчені та обґрунтовані ключові захисні шляхи патогенетичної дії 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) на травматично-пошкоджений головний мозок при ЧМТ представлені комплексом наведених механізмів на рис. 5. Окремі ланки та складові церебропротекторної дії досліджуваної сполуки в умовах експериментально-змодельованої тяжкої ЧМТ інтегровано та представлено нижче:

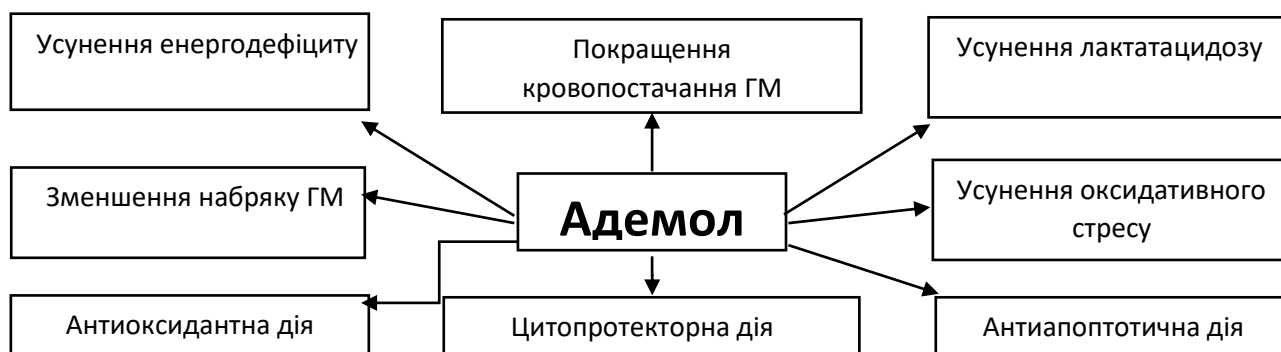


Рис. 5. Ключові патогенетичні механізми впливу 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) на головний мозок при ЧМТ

На підставі всіх з'ясованих можливих механізмів церебропротекторної дії 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (адемол) можна віднести до первинних церебропротекторів, що робить даний фармакологічний засіб перспективним для патогенетично раннього обґрунтованого лікування ЧМТ. Подальше використання адемолу в клінічній практиці можливо сприяє вирішенню проблеми щодо зниження летальності та інвалідизації після ЧМТ, що на сьогодні є неможливим, використовуючи існуючі первинні церебропротектори.

Інтраназальні лікарські форми, в практичній медицині та фармації, протягом тривалого періоду застосовувались, як засоби місцевої терапії різноманітних захворювань. 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 [I. Salazar.

2019; R. Jankowski. 2016; T. P. Crowe et al. Life Sci. 2018; H. Kumar et al. 2017; Sobieski J. L., Munakomi S. 2021; Galgatte U. C., Kumbhar A. B., Chaudhari P. D. 2014; Bernocchi B., Carpentier R., Betbeder D. 2017].

Експериментальними та дериватографічними методами вивчено сумісність діючих та допоміжних інгредієнтів назальної лікарської форми адемолау. 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 (адемола) 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 за рахунок фізіологічної та патогенетичної співставимості до вказаної нозології.

ВИСНОВКИ

У дисертації 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, що за динамікою показника летальності, рівнем маркера ушкодження головного мозку нейронспецифічної енолази та наявного неврологічного дефіциту за шкалою stroke-

index C.P. McGraw достовірно відповідає класифікації ступеня важкості ЧМТ від тяжкого 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 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% ($p < 0,05$).

3. Аналіз застосування адемолу 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 адемолу за показником об'ємної швидкості мозкового кровообігу краща в порівнянні з групою контролю та амантадину сульфату відповідно на: 76,2 та 34,8% ($p < 0,05$).

5. Аналіз отриманих даних 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 гіперактивіацію 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 адемом 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 адемому і на 49,2% ($p < 0,05$) перевищував відповідний показник у щурів з ЧМТ+адемом.

7. 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.

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. Адемом та амантадину сульфат стримують розвиток інтенсивної нейрогліопрولیферації. У групах тварин, лікованих адемом 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 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.

10. 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 в середньому на 27,2% ($8,35 \pm 0,133\%$ проти $11,47 \pm 0,02\%$) ($p < 0,05$).

11. 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 ($p < 0,05$).

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 адемом. Реологічні властивості характеризують рідку консистенцію, тому в якості упаковки доцільно використати флакон з піпеткою (назальною насадкою), одноразову крапельницю, пропелентну або безпропелентну упаковку.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

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. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2019-23(2)-04 (Здобувач провів експериментальне дослідження, аналіз отриманих даних, їх інтерпретацію, оформлення статті до друку).
2. Семененко С. І. Можливості фармакологічної корекції порушення вуглеводного обміну в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2019. Т. 23. № 3. С. 372–376. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2019-23(3)-05
3. Семененко С. І., Семененко А. І., Семененко І. Ф. Вплив амантадину сульфату на стан церебральної та центральної гемодинаміки при експериментальній черепно-мозковій травмі. *Медицина невідкладних станів*. 2019. № 6 (101). С. 106–110. DOI:10.22141/2224-0586.6.101.2019.179607 (Здобувач провів експериментальне дослідження, інтерпретацію отриманих даних, оформлення статті до друку).
4. Семененко С. І., Семененко А. І., Семененко О. М. Дослідження впливу амантадину сульфату на динаміку нейроапоптозу при експериментальній черепно-мозковій травмі. *Медицина невідкладних станів*. 2019. № 7 (102). С. 6–10. doi: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0586.7.102.2019.180352> (Здобувач провів інтерпретацію отриманих даних, оформив статтю до друку).
5. Семененко С. І. Дослідження церебропротекторної ефективності адемолу та магнію сульфату на експериментальній моделі черепно-мозкової травми. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2019. Т. 18. № 3. С. 63–69. DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XVIII.3.69.2019.11>
6. 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). С. 67–73. (Здобувач провів аналіз отриманих даних, їх інтерпретацію, оформлення статті до друку).
7. Семененко С. І. Порівняльний вплив адемолу, амантадину сульфату, магнію сульфату на неврологічний дефіцит та мнестичні функції у щурів із моделлю черепно-мозкової травми. *Буковинський медичний вісник*. 2019. Т. 23. № 4 (92). С. 108–115. DOI: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXIII.4.92.2019.97>
8. Semenenko S. I., Khrebtii H. I., Semenenko A. I. Investigation of the impact of amantadine sulphate on certain pathogenetic mechanisms of traumatic brain injury. *Deutscher Wissenschaftsherold German Science Herald*. 2019. № 4. P. 23–26. DOI:10.19221/201945 (Здобувач провів експериментальне дослідження, оформлення статті до друку).
9. Дослідження впливу адемолу на обмін монооксиду азоту в головному мозку щурів із черепно-мозковою травмою / С. І. Семененко, А. І. Семененко, С. С. Поліщук, Л. А. Вознюк, О. М. Семененко. *Медицина невідкладних станів*. 2020. Т.

16. № 1. С. 85–88. doi: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0586.16.1.2020.196934> (Здобувач провів аналіз отриманих даних, оформлення статті до друку).

10. Вплив адемола на рівень фактора некрозу пухлини α у головному мозку щурів з модельним травматичним ураженням мозку / С. І. Семененко, А. І. Семененко, С. С. Поліщук, Л. А. Вознюк, І. Ф. Семененко. *Медицина невідкладних станів*. 2020. Т. 16. № 4. С. 121–124. DOI: 10.22141/2224-0586.16.4.2020.207941 (Здобувач провів аналіз отриманих даних, оформлення статті до друку).

11. Семененко С. І. Вплив адемола на формування стероїдної нейротоксичності за рівнем кортизолу в умовах модельної черепно-мозкової травми. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2020. Т. 19. № 1. С. 85–90. DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XIX.1.71.2020.13>

12. 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. *Запорізь. мед. журн.* 2020. Т. 22. № 5. С. 622–626 (*Web of Science*). DOI: <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2020.5.214725> (Здобувач провів експериментальне дослідження, аналіз отриманих даних, оформлення статті до друку).

13. Semenenko S. Evaluation of the effect of ademol on the dynamics of neuron-specific enolase in traumatic brain injury in rats / S. Semenenko, A. Semenenko, S. Malik, N. Semenenko, L. Malik. *Georgian Medical News*. 2020. № 5. P. 123–126 (*Scopus*). (Здобувач провів аналіз отриманих даних, оформлення статті до друку).

14. Семененко С. І., Хребтій Н. І., Семененко А. І. Церебропротекторні властивості адемола при черепно-мозкових травмах. *Буковинський медичний вісник*. 2020. Т. 24. № 2 (94). С. 159–166. (Здобувач провів експериментальне дослідження, аналіз отриманих даних, оформлення статті до друку).

15. The effect of ademol on the dna fragmentation of cerebral cortex cells in rats with experimental traumatic brain injury / S. Semenenko, A. Semenenko, H. Khrebtii, R. Bodnar, N. Semenenko. *Georgian Medical News*. 2021. № 9 (318). P. 143–146 (*Scopus*). (Здобувач провів інтерпретацію отриманих даних, оформлення статті до друку).

16. 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 / S. Semenenko, A. Semenenko, N. Semenenko, O. Dobrovanov, D. Dmytriiev, M. Vidiščák. *Lekársky obzor*. 2021. 70. № 6. P. 212–215 (*Scopus*). (Здобувач провів аналіз отриманих даних, оформлення статті до друку).

17. Семененко С. Особливості морфологічних змін у структурах головного мозку щурів в умовах модельної черепно-мозкової травми. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2021. Т. 20. № 2 (76). С. 73–79. DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XX.2.76.2021.11>

18. Оцінка молекулярної мішені адемола методом хемоінформатики / С. І. Семененко, А. І. Семененко, Р. Г. Редькін, І. Ф. Семененко. *Медицина невідкладних станів*. 2021. Т. 17. № 7. С. 37–41. (Здобувач оформив статтю до друку, провів інтерпретацію отриманих даних).

19. 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. Dobrovanov, D. Dmitriev, O. Semenenko, M. Vidiščák. *Lekársky obzor*. 2022. № 71 (1). С. 21-26 (*Scopus*). (Здобувач оформив статтю до друку, провів інтерпретацію отриманих даних).

20. Розробка рідкої лікарської форми для інтраназального введення на основі адемола / С. І. Семененко, Б. С. Бурлака, К. А. Бурлака, О. М. Семененко. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Т. 16. № 3. С. 205–213. <https://doi.org/10.33250/16.03.205> (Здобувач провів аналіз отриманих даних, їх інтерпретацію, оформлення статті до друку).

21. Study of the Effect of Ademol on the Dynamics of S100 Protein in Rats with Traumatic Brain Injury / S. Semenenko, A. Semenenko, A. Saienko, N. Semenenko, N. Konovalova, Y. Babina, H. Nazarchuk. *Journal of Pharmaceutical Research International JPRI*. 2022. Vol. 34 (25A). S. 33–37 (*Scopus*). DOI: [10.9734/jpri/2022/v34i25A35945](https://doi.org/10.9734/jpri/2022/v34i25A35945) (Здобувач провів аналіз отриманих даних, їх інтерпретацію, оформлення статті до друку).

22. The effect of ademol on the dynamics of s100 proteins in rats with traumatic brain injury / S. Semenenko, A. Semenenko, O. Dobrovanov, A. Saienko, N. Semenenko, D. Dmitriev, N. Konovalova. *Lekársky obzor*. 2023. № 72 (4). С. 164-166 (*Scopus*). DOI: (Здобувач провів інтерпретацію отриманих даних, оформив статтю до друку).

23. Development of a spectrophotometric technique for the quantitative determination of ademol / S. I. Semenenko, K. P. Miedviedieva, S. O. Vasiuk, B. S. Burlaka. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2023. Vol. 16. № 1. S. 28-32. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.1.267437> (Здобувач провів аналіз отриманих даних, оформлення статті до друку).

24. Evaluation of the Cerebroprotective Properties of Ademol-gel in the Analysis of Specific Indicators in the Open Field Test / S. Semenenko, I. Semenenko, B. Burlaka, I. Samura, N. Bukhtiyarova, V. Ryzhenko, O. Khromylova. *Biomed Pharmacol Journal*. 2023. 16(2). S. 1219-1227. (*Scopus*). DOI : <https://dx.doi.org/10.13005/bpj/2702> (Здобувач провів аналіз отриманих даних, оформлення статті до друку).

Патенти

25. 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 (**патент**). (Здобувач розробив та апробував спосіб моделювання ЧМТ у щурів, аналіз отриманих даних і їх інтерпретацію, оформлення патенту до друку).

26. 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 (**патент**). (Здобувач розробив та

апробував модель експериментального дослідження в залежності від ступеня важкості ЧМТ, аналіз отриманих даних і їх інтерпретацію, оформлення патенту до друку).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

27. 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. (Здобувач провів аналіз отриманих даних) (Форма участі: усна доповідь).

28. Семененко С. І., Семененко А. І. Церебропротекторні дози адемолу в умовах ЧМТ у щурів. *Матеріали конгресу анестезіологів України (19–21 вересня 2019 р., м. Київ)*. Київ: НМУ імені О.О. Богомольця, 2019. С. 85. (Здобувач провів експериментальне дослідження)(Форма участі: публікація тез).

29. Семененко С. І., Ходаківський О. А., Яковлева О. О. Динаміка змін показників білку S100 у щурів із черепно-мозковою травмою під впливом адемолу. *Журнал подільських конференцій*. 2019. Т. 3 (III). С. 68–69. (Невідкладна допомога, інтенсивна терапія та анестезіологічне забезпечення важкохворих: матеріали Подільської всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 3–4 жовт. 2019 р., м. Вінниця). (Здобувач провів інтерпретацію отриманих даних)(Форма участі: публікація тез).

30. Семененко С. І., Семененко А. І. Оцінка нейропротективних властивостей адемолу при експериментальній черепно-мозковій травмі. *Трицинські читання : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю*. 16–18 жовтня 2019 р., м. Київ. Київ: НМАПО імені П. Л. Шупика, 2019. С. 56–57. (Здобувач провів експериментальне дослідження)(Форма участі: публікація тез).

31. Semenenko S., Semenenko A. Effectiveness of correction of discussion of carbohydrate metabolism in rats with craniocerebral injury. *Technology transfer: innovative solutions in medicine : Proceedings of the 3rd Annual Conference, 30 october 2019, Tallin, Estonia*. Tallin: DKlex ACADEMY, 2019. P. 30–32. (Здобувач провів аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку) (Форма участі: публікація тез).

32. Динаміка змін концентрації білку S 100 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. (Здобувач провів оцінку отриманих даних)(Форма участі: усна доповідь, публікація тез).

33. Семененко С. І., Семененко А. І. Спосіб відновлення порушень вуглеводного обміну у щурів із черепно-мозковою травмою. *Медицина України – європейський вибір : Збірник тез IV Міжнародного медичного наук.-практ. форуму (27-28 лютого 2020 р., м. Івано-Франківськ)*. Івано-Франківськ: Івано-Франківський НМУ, 2020. С. 27–29. (Здобувач провів аналіз отриманих даних, підготовку тез до друку) (Форма участі: публікація тез).

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

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

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

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

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

АФІ - активний фармацевтичний інгредієнт

АФК – активні форми кисню; **ВЧТ** – внутрішньо-черепний тиск; **ГМ** – головний мозок; **ГПМК** – гостре порушення мозкового кровообігу; **ГПО** – глутатіонпероксидаза; **МДА** – малоновий діальдегід; **ОМБ** – окисна модифікація білка; **ПОЛ** – перекисне окиснення ліпідів; **СК** – субарахноїдальний крововилив; **СОД** – супероксиддисмутаза; **УРПУ** – умовна реакція пасивного уникання; **ЦНС** – центральна нервова система; **ЧМТ** – черепно-мозкова травма; **BDNF** - мозковий нейротрофічний фактор; **NMDA**– N-метил-D-аспартат; **NO** – монооксид азоту; **NOS** – NO-синтаза; **NSE** – нейронспецифічна енолаза.