

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
УЗБЕКИСТАН
ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ**

«СОГЛАСОВАНО»

Начальник управления
развития науки
д.м.н., профессор

_____ Н.Л. Хабилов

«__» _____ 2019г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник главного управления
науки и образования
д.м.н., профессор

_____ У.С. Исмаилов

«__» _____ 2019г.

СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ

(методические рекомендации)

Ташкент-2019

Основное учреждение-разработчик: Ташкентская медицинская академия

Авторы:

Фазилова Шарифа Мирхамидовна—докторант базовой докторантуры Ташкентской медицинской академии.

Каримов Хамид Якубович—д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РУз., руководитель «Отдела молекулярной медицины и клеточных технологий» Научно-исследовательского института Гематологии и переливания крови МЗ РУз

Рецензенты:

Бобоева З.Н. —к.б.н., кафедры Нормальной и патологической физиологии ТМА

Исроилов А.А. —к.м.н., заместитель главного врача НИИ Г и ПК МЗ РУз

Методические рекомендации рассмотрены и утверждены на Ученом Совете Протокол № _____ от « ____ » _____ 2019 г.

Зарегистрированы в портале Министерства Здравоохранения РУз

Результаты работы внедрены в клинику НИИ Гематологии и переливания крови МЗ РУз, в отделение гематологии Хорезмского областного многопрофильного медицинского центра.

Проректор по научной работе
и инновациям ТМА,
д.м.н., профессор

Азизова Ф.Л.

Ученый Секретарь д.м.н., профессор

Исмаилова Г.А.

Методические рекомендации предназначены для врачей-гематологов, врачей общей практики, студентов, магистров, старших научных сотрудников – соискателей и преподавателей, клинических ординаторов. Область применения – патологическая физиология, гематология.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день изучены многие аспекты механизмов развития гемолитической анемии (ГА), однако достаточно весомым остается интерес к изучению патологических процессов, протекающих в эритроцитах при ГА.

Известно, что при ГА в патологический процесс вовлекаются как костномозговой компонент, так и периферическое звено эритрона. Прежде всего, при этом изменяются качественные свойства гемоглобина, что оказывают влияние на структурные и функциональные свойства мембраны самих эритроцитов, влекущие за собой их разрушение. Так как эритроцит является клеткой, которая во многом определяет состояние кислородного статуса всего организма, то ее гемолиз приводит к развитию ведущего синдрома ГА - гипоксии (Цветаева Н. В., Левина А. А., Мамукова Ю. И., 2010.). Это, в свою очередь, требует необходимости коррекции анемии для достижения более быстрого, ярко выраженного и долговременного терапевтического эффекта.

Подобные состояния организма требуют незамедлительного переливания донорской крови для возмещения частично утраченной газотранспортной функции крови в связи с разрушением эритроцитов и падением гемоглобина (Орехова О.Н., 2012).

Однако проведение гемотрансфузии далеко не всегда возможно из-за отсутствия подходящей донорской крови, высокой ее стоимости, наличие у больного противопоказаний к гемотрансфузии (Цветаева Н. В., Левина А. А., Мамукова Ю. И., 2010.). Именно поэтому учеными продолжается поиск альтернативных методов заместительной терапии при гемолитической анемии.

Между тем остаются до конца неясным при ГА основные патогенетические пути развития нарушений периферического звена эритрона, показателей обмена железа и т.д., а также изменения их статуса под воздействием лечения. Учитывая этот факт, изучение механизмов ГА в эксперименте закономерно диктует необходимость сосредоточения научного интереса на исследовании этих показателей. Изучение механизмов, патогенетических основ данных процессов и выявление закономерностей их изменений в эксперименте будет способствовать разработке новых путей коррекции возникающих нарушений при ГА (Рузиев У.С., Шевченко Л.И., Алимов Т.Р., 2017; P. Shukla, N. K. Yadav, P. Singh, F.W. Bansode, R.K.Singh, 2017).

На сегодня известны различные способы моделирования гемолитической анемии (ГА) путем применения экзогенных гемолитических факторов, к которым относятся фенилгидразин, фосфор, сапонины, змеиный яд и др. Однако гемолитические экзогенные факторы обладают выраженным токсическим действием на жизненно важные системы и органы (Богданов А.Н., Мазуров В.И., 2011).

Наиболее близким и часто используемым способом моделирования ГА является способ получения путем однократного внутрибрюшинного

введения фенилгидразина. Вместе с этим известно, что применение данного способа приводит к развитию побочных эффектов со стороны внутренних органов.

Обоснование способов моделирования гемолитической анемии и при использовании нового отечественного препарата оценить его эффективность.

Одной из задач современной экспериментальной медицины является поиск наиболее приемлемых способов моделирования гемолитической анемии. Известно, что наиболее удобным методом являющейся прототипом гемолитической анемии считается воспроизведения экспериментальной гемолитической анемии путём введением фенилгидразина. Однако фенилгидразин является высокотоксичным препаратом, в связи с чем поиск новых способов моделирования а также для оценки эффективности проводимого лечения является актуальным.

Цель исследования: оценить эффективность нового отечественного кровезаменителя «Реоманнисол» при экспериментальной гемолитической анемии, полученной разными способами моделирования.

ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

А. Экспериментальные животные

В соответствии с поставленной целью и задачами экспериментально на беспородных крысах создана модель гемолитической анемии двумя способами:

1. путем однократного внутрибрюшинного введения 2% раствора фенилгидразина в дозе 50 мг/кг массы животного;
2. путем внутрибрюшинного введения бутадiona в дозе 200 мкг/кг массы животного в течение 3 дней.

Исследуемые животные разделены на следующие равные группы:

I группа (n=33) – интактные животные; II группа (контрольная, n=36) – с экспериментальной моделью ГА полученной путем однократного в/б введения 2% раствора фенилгидразина в дозе 50 мг/кг массы животного; III группа (контрольная, сравнения, n=36) – с экспериментальной моделью ГА с экспериментальной моделью ГА полученной путем в/б введения бутадiona в дозе 200 мкг/кг массы животного в течение 3 дней; IV группа (основная, сравнения, n=30) А подгруппа (n=15) – животные с экспериментальной моделью гемолитической анемии путем введения фенилгидразина + после введения препарата «Реосорбилакт»; Б подгруппа (n=15) - животные с экспериментальной моделью гемолитической анемии путем введения бутадiona + после введения препарата «Реосорбилакт»; V группа (контрольная, опытная, n=30) – А подгруппа n=15)– животные с экспериментальной моделью гемолитической анемии путем введения фенилгидразина + после введения препарата «Реоманнисол»; Б подгруппа n=15)– животные с экспериментальной моделью гемолитической анемии путем введения бутадiona + после введения препарата «Реоманнисол».

Препараты «Реоманнисол» и «Реосорбилакт» вводили в дозе 10 мл/кг веса животных на следующий день после введения фенилгидразина и последнего введения бутадиона в течение 5 дней. Исследования производили через 1 – 2 – 5 сутки после введения препарата.

Б. Методы исследования

Животных на 1-е, 2-е и 5-е сутки жизни декапитировали под легким эфирным наркозом. В отдельную пробирку собирали кровь и сыворотку отделяли центрифугированием при 1000 об/мин в течение 15 мин. и сохраняли при -20°C.

В динамике эксперимента для установления развития ГА изучались показатели общего анализа крови и миелограммы по общепринятой методике. Во всех группах животных изучены показатели обмена железа: сывороточное железо (СЖ) (г/л) с использованием тест-систем HUMAN (Германия) измерения производили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе ИФ88Ф (Mindray, Китай), общая железосвязывающая способность сыворотки (ОЖСС) колориметрическим методом по Генри (1991), ферритин иммуноферментным методом с использованием тест систем Ферритин-ИФА-Бест (Т-8552) (Вектор-Бест, Россия).

В. Методы статистической обработки материала

Статистическую обработку полученных результатов проводили на компьютере IBMPC при помощи программы «MicrosoftOfficeExcel-2012» с расчетом средней арифметической величины (M), ошибки средней арифметической величины (m), выражающей надежность полученной средней величины изучаемого признака, коэффициента линейной корреляции (r), t-доверительного коэффициента (критерий достоверности различия Стьюдента-Фишера) в программной среде StatSoft, Inc. (2012) при проверке нормальности распределения STATISTICA (dataanalysissoftwaresystem), version 12. Достоверным считали различие сравниваемых величин при значении $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Введение фенилгидразина приводило у подопытных животных к развитию гемолитической анемии, о чем свидетельствовали изменения гематологических показателей (табл. 1 и 2). В частности к 5-м суткам наблюдения во II группе наблюдали уменьшение числа эритроцитов на 44,4%, снижение концентрации гемоглобина на 51,6%, что являлось прямым следствием гемолиза крови, в то же время было отмечено увеличение доли ретикулоцитов в 4,3 раза, что может являться основным проявлением реакции костного мозга на резкое уменьшение кислородпереносящей функции крови, вследствие ускоренного разрушения эритроцитов. Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) при этом повысилась в 2,9 раза, что также может свидетельствовать об уменьшении клеточно-плазменного соотношения в составе крови и изменениях электрического потенциала мембран эритроцитов, вследствие гемолиза.

Таблица 1

Изменения гематологических показателей при экспериментальной гемолитической анемии

показатели	Интактные, n=33	ГА, n=36
	I	II
Эритроциты	3,60±0,16	2,0±0,09 ^a
Гемоглобин	123,0±7,4	59,5±2,8 ^a
Цветной показатель	0,85±0,03	0,9±0,05
Ретикулоциты	6,6±0,64	28,8±1,8 ^a
Тромбоциты	235,4±15,8	220,8±9,3
Лейкоциты	6,40±0,45	9,8±0,65 ^a
СОЭ	8,8±0,68	25,7±0,87 ^a

Примечание: Примечание: а - достоверность ($p < 0,05$) при сравнении с интактными животными (I группа);

В III - группе животных к 5-м суткам наблюдали уменьшение числа эритроцитов на 39,4%, снижение концентрации гемоглобина на 49,3%, что являлось прямым следствием гемолиза крови, в то же время было отмечено увеличение доли ретикулоцитов в 4,0 раза, что может являться основным проявлением реакции костного мозга на резкое уменьшение кислородпереносящей функции крови, вследствие ускоренного разрушения эритроцитов. Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) при этом повысилась в 2,4 раза, что также может свидетельствовать об уменьшении клеточно-плазменного соотношения в составе крови и изменениях электрического потенциала мембран эритроцитов, вследствие гемолиза.

Таблица 2

Изменения гематологических показателей при экспериментальной гемолитической анемии

показатели	Интактные, n=33	ГА, n=36
	I	III
Эритроциты	3,60±0,16	2,18±0,1 ^a
Гемоглобин	123,0±7,4	62,3±2,6 ^a
Цветной показатель	0,85±0,03	0,86±0,04
Ретикулоциты	6,6±0,64	26,4±1,6 ^a
Тромбоциты	235,4±15,8	228,2±10,1
Лейкоциты	6,40±0,45	8,7±0,71 ^a
СОЭ	8,8±0,68	21,2±0,72 ^a

Примечание: Примечание: а - достоверность ($p < 0,05$) при сравнении с интактными животными (I группа);

Проведенные исследования показателей обмена железа у крыс с экспериментальной ГА в начальном периоде выявили, что анемия протекала с высоким уровнем СЖ, ОЖСС и ферритина (максимально в 1-е сутки эксперимента) в связи с гемолизом эритроцитов под токсическим воздействием введенного фенилгидразина и бутадiona.

Изучая динамику этих показателей в II, III, IV и V группах выявлено, что количество СЖ во всех трех группах оказалась максимальной в 1-е сутки лечения, начиная со 2-х суток этот показатель снижался во всех группах животных, однако в V -ей группе (13,3 мкмоль/л) под воздействием введения реоманнисола он более приближался к норме в сравнение с I (18,8 мкмоль/л) и II (15,5 мкмоль/л) группами.

Уровень ОЖСС при ГА во II группе исследования повысился на 58,2 % ($p < 0.0001$) в первые сутки исследования, на 60,1% ($p < 0.0001$) во вторые сутки и на 62,4% ($p < 0.0001$) на третьи сутки относительно значений данного показателя у интактных животных в соответствующие сроки исследования.

В III группе животных с ГА, несколько ниже, чем во II группе животных, однако оставаясь на достоверно высоких значениях по сравнению с интактными особями в I группе.

У крыс получивших инфузию препарата «Реосорбилакт» в качестве терапии ГА было отмечено снижение ОЖСС, по сравнению с ее значением во II и III группе среди нелеченых особей. Так, в А подгруппе IV группы ОЖСС на первые сутки была ниже на 34,9% ($p < 0.0001$), на вторые сутки – на 45,6% ($p < 0.05$), на пятые сутки 46,6% на ($p < 0,01$) соответственно. Тогда как в Б подгруппе уровень ОЖСС снижался более интенсивно в отношении к таковому в А подгруппе: на первые сутки ОЖСС оказалась ниже на 37,2% ($p < 0.0001$), на вторые сутки – на 49,8% ($p < 0.05$), на пятые сутки на 52,4% ($p < 0,01$) соответственно

Применение препарата «Реоманнисол» приводило к еще более значительному снижению ОЖСС в V группе, по сравнению с нелечеными особями во II и III группе животных. Так, в А подгруппе этой группы ОЖСС в первые сутки снизилась на 39,6% ($p < 0.05$), на вторые сутки - на 51,0% ($p < 0,0002$) и на третьи сутки на - 55,8% ($p < 0.0001$). В Б подгруппе значения ОЖСС снизились в первые сутки на 42,7% ($p < 0.05$), на вторые сутки на 56,9% ($p < 0,0001$) и на третьи сутки на -62,9% ($p < 0.0001$). По сравнению с животными, получившими «Реосорбилакт» в IV группе значения ОЖСС в А подгруппе V группы на первые, вторые и пятые сутки были ниже на 4,7% ($p < 0.05$), 5,4% ($p < 0.0001$) и 9.2% ($p < 0.0001$) соответственно, а в Б подгруппе на 5,5% ($p < 0.001$), 7,1% ($p < 0.0001$) и 10,5% ($p < 0.0001$), соответственно.

При ГА во II группе отмечалось повышение значений ферритина, которые к первым суткам исследования были на 91,4% выше, на вторые сутки – на 88,4% и на пятые сутки - на 85% выше, относительно показателей интактных животных в первой группе. В III группе животных с ГА отмечалось повышение значений ферритина, на 89,2% в первые сутки исследования, на 85,1% - на вторые сутки и на 82% на пятые сутки, относительно показателей интактных животных в первой группе.

После лечения ГА с применением препарата «Реосорбилакт» по отношению к нелеченым животным в А подгруппе IV группе содержание ферритина в сыворотке крови подопытных крыс на первые, вторые и пятые сутки было ниже на 70,0%, 64,1% и 71,3% соответственно, а в Б подгруппе

на 73,0%, 68,4% и 75,6% чем в группах с ГА без лечения на соответствующем сроке.

В сравнении с результатами концентрации ферритина, полученными в IV группе, после лечения «Реосорбилактом» содержание ферритина в А подгруппе V группы после применения «Реоманнисол» было ниже на первые, вторые и пятые сутки исследования на 52,6%, 58,3% и 64,1%, соответственно, а в Б подгруппе на 55,2%, 62,4% и 68,6%, соответственно.

Полученные результаты свидетельствовали о повышении значений маркеров эндогенной интоксикации при моделировании экспериментальной гемолитической анемии, вызванной фенилгидразином и бутатионом (табл. 3 и 4). Уже в первые сутки после введения препаратов было отмечено повышение содержания в плазме $СМ_{пл.}$ в среднем на 27,3% и ($p=0,003$), $ИТ_{пл.}$ – на 42,3% ($p<0,002$), а в эритроцитах содержание $СМ_{эр.}$ было выше на 23,7% ($p<0,022$), $ИТ$ эритроцитов. При этом значение ИИ в первые сутки после моделирования гемолитической анемии было на 41,3% ($p=0,005$) статистически значимо выше, чем среди интактных животных, а СЕЭ – на 24,0% ($p<0,010$).

Также к первым суткам у животных с экспериментальной фенилгидразиновой интоксикацией было отмечено статистически незначимое повышение $ОП_{пл.}$ на ($p>0,05$), как и $ОП_{эр.}$ – на 25,0% ($p>0,05$) В то же время отмечалась тенденция к повышению коэффициента $K_{расп} СМ_{пл.}/СМ_{эр.}$

Ко вторым суткам экспериментальной гемолитической анемии значения индикаторов эндогенной интоксикации продолжали расти. Так, в плазме содержание $СМ_{пл.}$ было выше уже на 35,5% ($p<0,0001$), концентрация $ОП_{пл.}$ – на 35,2% ($p=0,009$), $ИТ_{пл.}$ – на 58,3% ($p<0,0001$), в эритроцитах наблюдали повышение $СМ_{эр.}$ – на 34,1% ($p<0,0001$), концентрации $ОП_{эр.}$ – на 32,8% ($p=0,001$), $ИТ_{эр.}$ – на 53,2% ($p=0,001$). Также было отмечено увеличение СЕЭ на 34,12% ($p<0,001$).

В то же время у животных с экспериментальной гемолитической анемией к 5-м суткам эксперимента значение $СМ_{пл.}$ было уже на 46,9% ($p=0,001$), $ОП_{пл.}$ – на 46,2% ($p=0,002$) и $ИТ_{пл.}$ – на 72,67% ($p=0,001$) превышало их значение среди интактных животных. При этом во второй группе, на крайнем сроке экспериментальной гемолитической анемии, содержание $СМ_{эр.}$ было повышено на 46,9% ($p=0,001$), $ОП_{эр.}$ – 48,0% ($p=0,001$), $ИТ_{эр.}$ – на ($p=0,001$), СЕЭ на – 48,3% ($p=0,001$), ИИ – на 69,3% ($p=0,001$), относительно значений соответствующих индикаторов эндогенной интоксикации I группе.

Таблица 3.

Состояние показателей эндогенной интоксикации в исследуемых группах при гемолитической анемии после введения фенилгидразина у крыс ($M\pm m$)

Исследуемые показатели	интактные	ГА		
	I группа	1-е сут	2-е сут	5-и сут
В плазме				
$СМ, усл.ед.$	$10,6\pm 0,8$	$14,58\pm 0,87^a$	$16,43\pm 0,81^a$	$20,81\pm 0,83^{abc}$

Концентрация олигопептидов, г/л	0,7±0,11	0,91±0,07 ^a	1,08±0,07 ^a	1,30±0,10 ^{ab}
Индекс токсемии	7.53±1.71	13,06±1,04 ^a	18,04±1,97 ^{ab}	27,56±3,01 ^{abc}
Индекс интоксикации	21.01±3.03	35,81±3,42 ^a	44,34±4,12 ^a	68,49±7,61 ^{abc}
В эритроцитах				
СМ, усл.ед.	13,9±1,2	18,21±1,22 ^a	21,10±1,17 ^a	26,17±0,98 ^{abc}
Коэффициент распределения, СМ _{пл.} /СМ _{эр.}	0,78±0,04	0,85±0,09	0,78±0,02	0,80±0,03
Концентрация олигопептидов, г/л	0,9±0,10	1,20±0,12 ^a	1,34±0,08 ^a	1,73±0,10 ^{abc}
Индекс токсемии	13.48±2,17	22,75±3,27 ^a	28,83±3,04 ^a	45,61±4,03 ^{abc}
СЕЭ, %	20,6±1,10	27,09±1,87 ^a	31,27±1,88 ^a	39,84±2,02 ^{abc}

Примечание: а - достоверность ($p<0,05$) при сравнении с интактными животными (I группа); b - то же ($p<0,05$) при сравнении с гемолитической анемией без лечения на первые сутки; с - то же ($p<0,05$) при сравнении с гемолитической анемией без лечения на вторые сутки.

В III группе животных уже в первые сутки после введения препаратов было отмечено повышение содержания в плазме СМ_{пл.} в среднем в 1,06 раз ($p=0,001$), ИТ_{пл.} – 1,34 раза ($p<0,001$), а в эритроцитах содержание СМ_{эр.} было выше в 1,16 раз ($p<0,022$), ИТ эритроцитов в 1,7 раз ($p<0,001$). При этом значение ИИ в первые сутки после моделирования гемолитической анемии было в 1,37 разна 41,3% ($p=0,005$) статистически значимо выше, чем среди интактных животных, а СЕЭ – на 24,0% ($p<0,01$).

Также к первым суткам у животных этой группы было отмечено статистически незначимое повышение ОП_{пл.} ($p>0,05$), как и ОП_{эр.} – в 1,2 раза ($p>0,05$). В то же время отмечалась тенденция к повышению коэффициента $K_{расп}$ СМ_{пл.}/СМ_{эр.}

Ко вторым суткам экспериментальной гемолитической анемии значения индикаторов эндогенной интоксикации продолжали расти. Так, в плазме содержание СМ_{пл.} было выше уже в 1,35 раз ($p<0,0001$), концентрация ОП_{пл.} – в 1,3 раз ($p<0,05$), ИТ_{пл.} – в 1,9 раз ($p<0,0001$), в эритроцитах наблюдали повышение СМ_{эр.} – в 1,31 ($p<0,0001$), концентрации ОП_{эр.} – в 1,42 раза ($p=0,001$), ИТ_{эр.} – в 1,98 раз ($p=0,001$). Также было отмечено увеличение СЕЭ в 1,4 раза ($p<0,001$).

В то же время у животных с экспериментальной гемолитической анемией к 5-м суткам эксперимента значение СМ_{пл.} было уже в 1,6 раз ($p=0,001$), ОП_{пл.} – в 1,5 раз ($p=0,001$) и ИТ_{пл.} – в 2,7 ($p=0,001$) превышало их значение среди интактных животных. При этом во второй группе, на крайнем сроке экспериментальной гемолитической анемии, содержание СМ_{эр.} было повышено в 1,45 раз ($p=0,001$), ОП_{эр.} – в 1,87 раз ($p=0,001$), ИТ_{эр.} – 2,86 ($p=0,001$), СЕЭ в 1,6 раз ($p=0,001$), относительно значений соответствующих индикаторов эндогенной интоксикации I группе.

Таблица 4.

Состояние показателей эндогенной интоксикации в исследуемых группах при гемолитической анемии после введения бутадиона у крыс (M±m)

Изучаемые показатели	интактные	ГА		
	I группа	1-е сут	2-е сут	5-и сут
В плазме				
СМ, усл.ед.	10,6±0,8	11,32±0,71 ^a	14,32±0,78 ^a	16,74±0,78 ^{abc}
Концентрация олигопептидов, г/л	0,7±0,11	0,84±0,07 ^a	0,9±0,07 ^a	1,04±0,08 ^{ab}
Индекс токсемии	7.53±1.71	10,04±1,01 ^a	14,01±1,82 ^{ab}	20,5±2,87 ^{abc}
Индекс интоксикации	21.01±3.03	28,72±3,24 ^a	34,5±3,82 ^a	47,6±6,7 ^{abc}
В эритроцитах				
СМ, усл.ед.	13,9±1,2	16,18±1,02 ^a	18,2±1,05 ^a	20,2±0,87 ^{abc}
Коэффициент распределения, СМпл./ СМэр.	0,78±0,04	0,7±0,07	0,78±0,04	0,83±0,01
Концентрация олигопептидов, г/л	0,9±0,10	1,08±0,1 ^a	1,28±0,06 ^a	1,68±0,10 ^{abc}
Индекс токсемии	13.48±2,17	22,61±3,18 ^a	26,78±3,04 ^a	38,58±3,2 ^{abc}
СЕЭ, %	20,6±1,10	20,1±1,62 ^a	28,21±1,64 ^a	32,62±2,01 ^{abc}

Примечание: а - достоверность ($p < 0,05$) при сравнении с интактными животными (I группа); b - то же ($p < 0,05$) при сравнении с гемолитической анемией без лечения на первые сутки; c - то же ($p < 0,05$) при сравнении с гемолитической анемией без лечения на вторые сутки.

Исследование показало повышение значений маркеров эндогенной интоксикации на первые и вторые сутки исследования, а также их понижение после введения экспериментальным животным препаратов «Реосорбилакт» и «Реоманнисол» (табл. 5 и 6).

Инфузия препарата сравнения «Реосорбилакт» приводила к снижению концентрации показателей эндогенной интоксикации в плазме и в эритроцитах крови, по сравнению с животными II группы, которые не получали лечения. Так, в плазме СМ_{пл.} в VI группе был ниже на 44,9% ($p < 0,0001$), ОП_{пл.} – на 43,8% ($p < 0,0001$), ИТ_{пл.} – на 69,3% ($p < 0,0001$), в эритроцитах: СМ_{эр.} – на 48,1% ($p < 0,0001$), ОП_{эр.} – на 43,9% ($p < 0,0001$), ИТ_{эр.} – на 70,8% ($p < 0,0001$), СЕЭ – на 43,2% ($p < 0,0001$) и в целом ИИ – на 68,1% ($p < 0,0001$).

После применения нового отечественного препарата «Реоманнисол» также можно было отметить снижение критериев эндогенной интоксикации. Относительно значений изучаемых показателей при экспериментальной гемолитической анемии в плазме на 5-е сутки после инфузии препарата «Реоманнисол» происходило понижение СМ_{пл.} на 53,1% ($t=12,206$; $p < 0,0001$), ОП_{пл.} – на 50,8% ($p < 0,0001$), ИТ_{пл.} – на 76,9% ($p < 0,0001$), а в эритроцитах СМ_{эр.} было ниже на 56,2% ($p < 0,0001$), ОП_{эр.} – на 50,9%

($p < 0,0001$), ИТ_{эр.} – на 78,3% ($p < 0,0001$), ИИ – на 76,9% ($p < 0,0001$) и СЕЭ – на 50,5% ($p < 0,0001$).

При этом, по сравнению с эффектом от инфузии препарата сравнения «Реосорбилакт», после применения нового препарата «Реоманнисол» СМ_{пл.} был ниже на 14,95% ($p = 0,016$), ИТ_{пл.} – на 24,8% ($p = 0,035$), СМ_{эр.} – на 15,0% ($p = 0,012$), СЕЭ – на 12,9% ($p = 0,011$) и ИИ – на 27,5% ($p = 0,018$). Также, относительно значений параметров эндогенной интоксикации III группы, в IV группе отмечалось статистически незначимое, но, тем не менее, довольно заметное снижение ОП_{пл.} – на 12,3% ($p > 0,05$), ОП_{эр.} – на 12,3% ($p > 0,05$), ИТ_{эр.} – на 25,7% ($p > 0,05$).

Таблица 5

Состояние показателей эндогенной интоксикации в исследуемых группах при гемолитической анемии (интоксикации фенилгидразином) у крыс и на 5-е сутки после введения кровезаменителей (M±m)

показатели	Интактные	ГА	ГА +	
			«Реосорбилакт»	«Реоманнисол»
	I	II	IV	V
5-и сут				
В плазме				
СМ, усл.ед.	10,6±0,8	20,81±0,83 ^a	11,47±0,44 ^b	9,76±0,44 ^{bcd}
ОП, г/л	0,7±0,11	1,30±0,10 ^a	0,73±0,03 ^b	0,64±0,04 ^b
ИТ	7,53±1,71	27,56±3,01 ^a	8,46±0,68 ^b	6,36±0,56 ^{bcd}
ИИ	21,01±3,03	68,49±7,61 ^a	21,82±1,99 ^b	15,82±1,02 ^{bcd}
В эритроцитах				
СМ, усл.ед.	13,9±1,2	26,17±0,98 ^a	13,57±0,46 ^b	11,45±0,57 ^{bcd}
Кр, СМ _{пл./} СМ _{эр.}	0,78±0,04	0,80±0,03 ^a	0,85±0,01	0,88±0,06
ОП, г/л	0,9±0,10	1,73±0,10 ^a	0,97±0,06 ^b	0,85±0,06 ^b
ИТ	13,48±2,17	45,61±4,03 ^a	13,36±1,20 ^b	9,92±1,12 ^{bc}
СЕЭ, %	20,6±1,10	39,84±2,02 ^a	22,64±0,46 ^{bc}	19,72±0,89 ^{bcd}

Примечание: Примечание: а - достоверность ($p < 0,05$) при сравнении с интактными животными (I группа); b - то же ($p < 0,05$) при сравнении с гемолитической анемией без лечения (II группа); c - то же ($p < 0,05$) то же ($p < 0,05$) при сравнении результатов с группой после инфузии препарата «Реосорбилакт»

Инфузия препарата сравнения «Реосорбилакт» приводила к снижению концентрации показателей эндогенной интоксикации в плазме и в эритроцитах крови, по сравнению с животными II группы, которые не получали лечения. Так, в плазме СМ_{пл.} в VI группе был ниже 1,55 раз

($p < 0,0001$), ОП_{пл.} – в 1,48 раз ($p < 0,0001$), ИТ_{пл.} – в 2,62 раза ($p < 0,0001$), в эритроцитах: СМ_{эр.} – в 1,54 раза ($p < 0,0001$), ОП_{эр.} – 1,8 раз ($p < 0,0001$), ИТ_{эр.} – в 3,1 раза ($p < 0,0001$), СЕЭ – в 1,6 раз ($p < 0,0001$).

После применения нового отечественного препарата «Реоманнисол» также можно было отметить снижение критериев эндогенной интоксикации. Относительно значений изучаемых показателей при экспериментальной гемолитической анемии в плазме на 5-е сутки после инфузии препарата «Реоманнисол» происходило понижение СМ_{пл.} в 1,97 раз ($p < 0,0001$), ОП_{пл.} – в 1,73 раз ($p < 0,0001$), ИТ_{пл.} – 1,39 ($p < 0,0001$), а в эритроцитах СМ_{эр.} было ниже в 1,97 раз ($p < 0,0001$), ОП_{эр.} – в 2,0 раза ($p < 0,0001$), ИТ_{эр.} – 4,4 раза ($p < 0,0001$), ИИ – в 1,4 раза ($p < 0,0001$) и СЕЭ – в 1,74 раза ($p < 0,0001$).

При этом, по сравнению с эффектом от инфузии препарата сравнения «Реосорбилакт», после применения нового препарата «Реоманнисол» СМ_{пл.} был ниже в 1,27 раз ($p = 0,02$), ИТ_{пл.} – в 1,27 раз ($p = 0,05$), СМ_{эр.} – в 1,28 раз ($p = 0,01$), СЕЭ – в 1,1 раза ($p = 0,01$) и ИИ – 1,4 раза ($p = 0,02$).

Таблица 6

Состояние показателей эндогенной интоксикации в исследуемых группах при гемолитической анемии (интоксикации бутадиионом) у крыс и на 5-е сутки после введения кровезаменителей (M±m)

показатели	Интактные	ГА	ГА +	
			«Реосорбилакт»	«Реоманнисол»
	I	II	IV	V
5-и сут				
В плазме				
СМ, усл.ед.	10,6±0,8	16,74±0,78 _{abc}	10,8±0,38 ^b	8,5±0,41 ^{bcd}
ОП, г/л	0,7±0,11	1,04±0,08 _{ab}	0,70±0,03 ^b	0,60±0,03 ^b
ИТ	7,53±1,71	20,5±2,87 _{abc}	7,8±0,62 ^b	6,12±0,42 ^{bcd}
ИИ	21,01±3,03	47,6±6,7 ^{abc}	20,78±1,65 ^b	14,74±1,01 ^{bcd}
В эритроцитах				
СМ, усл.ед.	13,9±1,2	20,2±0,87 _{abc}	13,12±0,35 ^b	10,24±0,43 ^{bcd}
Кр, СМ _{пл.} /СМ _{эр.}	0,78±0,04	0,83±0,01	0,80±0,01	0,78±0,04
ОП, г/л	0,9±0,10	1,68±0,10 _{abc}	0,91±0,04 ^b	0,82±0,04 ^b
ИТ	13,48±2,17	38,58±3,2 _{abc}	12,27±1,17 ^b	8,78±1,06 ^{bc}
СЕЭ, %	20,6±1,10	32,62±2,01 _{abc}	20,66±0,38 ^{bc}	18,68±0,74 ^{bcd}

Примечание: Примечание: а - достоверность ($p < 0,05$) при сравнении с интактными животными (I группа); b - то же ($p < 0,05$) при сравнении с гемолитической анемией без лечения (II группа); с - то же ($p < 0,05$) то же ($p < 0,05$) при сравнении результатов с группой после инфузии препарата «Реосорбилакт»

Поиск средств обладающих протективным действием при патологиях поражающих эритроциты и эритроцитарный росток, в частности при гемолитической анемии, не теряет своей актуальности и в настоящее время [14, 15, 18]. Одной из наиболее патогенетически рациональных экспериментальных моделей отражающих изменения наблюдающихся при анемии можно считать модель фенилгидразиновой интоксикации [16, 17]. Гипоксия, являющаяся характерным признаком анемии, со снижением аэробной способности крови, минимальным воздействием на биохимические процессы в достаточной степени отражает процессы, происходящие при анемии, что позволяет ее использовать изучении данной патологии [15].

Полученные данные свидетельствуют о понижении основных индикаторов эндогенной интоксикации, после инфузии препаратов «Реосорбилакт» и особенно после применения нового препарата «Реоманнисол», что по-видимому связано с участием входящих в него компонентов в репаративных процессах на клеточном и тканевом уровнях [6]. Входящий в состав препарата «Реоманнисол» сукцинат натрия способен оказывать активизирующее воздействие на дыхательную цепь митохондрий в печени, которая имеет первостепенное значение интенсивности процессов детоксикации. Также сукцинат натрия способен оказывать нормализующее воздействие на емкость буферных систем крови, предотвращая развитие или усугубление процессов уже развившегося ацидоза, также играющего не последнюю роль в тяжести процессов интоксикации [6].

Продемонстрированное понижение маркеров эндогенной интоксикации при использовании препарата «Реоманнисол» свидетельствует об его эффективности, что подтверждается данными авторов [2, 10].

Обобщая полученные результаты, можно сделать заключение о том, что ГА моделированная путем введения фенилгидразина обладает большей токсичностью, доказательством которого является наиболее высокий уровень эндогенной интоксикации и ОЖСС и ферритина, в сравнение с ГА полученной способом введения бутадииона. Сравнительная оценка действия отечественного препарата «Реоманнисол» показала большую его эффективность в отношении препарата «Реосорбилакт», что заключалось в большем восстановлении показателей обмена железа в опытных группах животных за счет дезинтоксикационного, антигипоксического действия, а также выраженного стимулирующего его действия на процессы эритропоэза. Положительное действие препарата «Реоманнисол» обусловлено наличием в его составе сукцината натрия, который наряду с повышением энергетического потенциала организма обладает хорошим дезинтоксикационным действием, а наличие антиоксиданта

осмодиуретического действия – маннитола, усиливает действие ключевого компонента.

Социально-экономическая эффективность

Экономическая эффективность способа заключается в том, что появляется возможность в кратчайшие, приемлемые для практической медицины, сроки улучшить состояние показателей обмена железа.

Входящий в состав препарата «Реоманнисол» сукцинат натрия способен оказывать:

- активизирующее воздействие на дыхательную цепь митохондрий в печени, которая имеет первостепенное значение интенсивности процессов детоксикации;

- сукцинат натрия способен оказывать нормализующее воздействие на емкость буферных систем крови;

- предотвращает развитие или усугубление процессов уже развившегося ацидоза;

- восстановлению и нормализации обмена железа, что крайне важно и необходимо в лечении гемолитических анемий.

- снижению показателей эндогенной интоксикации;

Являясь инновационной, данный отечественный препарат остается доступной по цене. Лечение с применением «Реоманнисола» 25 больных с гемолитической анемией на один год характеризуется:

- 1) сокращением сроков временной нетрудоспособности в среднем на 111 043 500 сум,

- 2) сокращением сроков пребывания в больнице и снижение стоимости лечения на 1 850 725 сум;

- 3) Сокращение затрат на обследование и нахождение в стационаре при использовании новой методики в среднем 109 192 775 сум

Выводы:

1. Для изучения механизмов развития гемолитической анемии в эксперименте, удобным способом моделирования гемолитической анемии является однократное внутривенное введение фенилгидразина.

2. О развитии гемолитической анемии свидетельствуют нарушения в обмене железа, развивающиеся в результате разрушения эритроцитов.

3. «Реоманнисол» обладает комплексным воздействием на организм, среди них – выраженное восстановление показателей обмена железа, за счет стимулирующего его действия на процессы эритропоэза.

Список литературы

1. Богданов А.Н., Мазуров В.И. Гемолитические анемии //Вестник Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования. Т. 3, № 3 2011, С.107-114.

2. Бушмина О.Н., Локтионов А.Л., Долгарева С.А., Прокопенко Л.Г., Чуева Т.В. Фармакологическая коррекция метаболических нарушений при экспериментальном деструктивном панкреатите в условиях алкогольной интоксикации // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2015. №3. – С. 63-67.
3. Карелина Л. Н., Власов Б. Я., Ильина О. П. Влияние янтарной и малоновой кислот на активность сукцинатдегидрогеназы и содержание молекул средней массы у цыплят-бройлеров при темновом стрессе // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2010. – №. 11. – С. 125-128.
4. Копытова Т. В. Характеристика функционального состояния мембран эритроцитов при эндогенной интоксикации у больных хроническими распространенными дерматозами // Фундаментальные исследования. – 2010. – №. 2. – С. 39-44.
5. Никонов В. В., Павленко А. Ю. Метаболическая терапия гипоксических состояний // Медицина неотложных состояний. – 2009. – Т. 3. – №. 4. – С. 22-23.
6. Орехова О.Н. Сравнительная оценка антигипоксического действия цельной крови и препарата перфторан на патогенез гемолитической анемии у собак. М., автореферат диссертации, 2012.
7. Попков В. Л., Леонтьев В. К., Галенко-Ярошевский П. А. Фармакотерапевтическая активность натрия сукцината «Энергостима» и «Мексидола». Применение в пародонтологии (обзор литературы) // Пародонтология. – 2009. – №. 2. – С. 39-45.
8. Рузиев У.С., Шевченко Л.И., Алимов Т.Р. Действие нового кровезаменителя на активность процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы миокарда при острой смертельной кровопотере // Журнал теоретической и клинической медицины – 2017 №4 С. 89-93.
9. Смирнов А. В., Нестерова О. Б., Голубев Р. В. Янтарная кислота и ее применение в медицине. Часть II. Применение янтарной кислоты в медицине // Нефрология. – 2014. – Т. 18. – №. 4. – С. 12-24.
10. Стариков А. В., Петров А. К. Особенности применения мембранного плазмафереза в интенсивной терапии гемолитического криза // Актуальные вопросы хирургической гепатологии, гастроэнтерологии и трансфузиологии: мате. – 2011. – С. 60-62.
11. Тихонова Е. О., Ляпина Е. П., Шульдяков А. А. Изучение эффективности патогенетической терапии больных острыми кишечными инфекциями с использованием сукцинат-содержащего препарата реамберина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76. – №. 1. – С. 11-13.
12. Ткаченко Елена Андреевна, Дерхо Марина Аркадьевна Лейкоцитарные индексы при экспериментальной кадмиевой интоксикации мышей // Известия ОГАУ. 2014. №3. С. 81-83.
13. Федорова О. В., Федулова Э. Н., Тутина О. А., Коркоташвили Л. В. Эндогенная интоксикация при воспалительных заболеваниях кишечника у

детей: обоснование эфферентной терапии // Современ. технол. мед.. 2011. №3. С. 94-97.

14. Цветаева Н. В., Левина А. А., Мамукова Ю. И. Основы регуляции обмена железа// Клиническая онкогематология. Т.3, №3, 2010. С.278-285.

15. Шано В. П., Кучер Е. А. Синдром эндогенной интоксикации //Острые и неотложные состояния в практике врача. – 2011. – Т. 1. – №. 25. – С. 35-41.

16. Manikandaselvi S. David RAJ C., Aravind S., Ravikumar R., Thinagarbabu R., Nandhini S. Anti-Anemic Activity of Sprouts of Vigna Radiata L. in male Albino Rats //International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2015. – Т. 7. – №. 11. – С. 263-267.

17. Paul S. Naaz S., Ghosh A. K., Mishra S., Chattopadhyay A., Bandyopadhyay. D. Melatonin chelates iron and binds directly with phenylhydrazine to provide protection against phenylhydrazine induced oxidative damage in red blood cells along with its antioxidant mechanisms: an in vitro study //Melatonin Research. – 2018. – Т. 1. – №. 1. – С. 1-20.

18. Ponmozhi E., Ramya B. Anti-anemic activity Murraya Koenigii leaves on phenylhydrazine induced anemia in rats // World Journal of Science and Research 1(1): (2015) P. 1-8.

19. Pooja Shukla¹, Navneet Kumar Yadav¹, Poonam Singh¹, F.W. Bansode² and R.K. Singh¹*Phenylhydrazine induced toxicity: a review on its Haematotoxicity. International Journal of Basic and Applied Medical Sciences ISSN: 2277-2103.

20. Powell M. D., Burke M. S., Dahle D. Cardiac remodelling, blood chemistry, haematology and oxygen consumption of Atlantic cod, *Gadus morhua* L., induced by experimental haemolytic anaemia with phenylhydrazine //Fish physiology and biochemistry. – 2011. – Т. 37. – №. 1. – С. 31-41.

21. Sirman V. M., Nasibullin B A, Shafran L M, Zukow W, Gozhenko A I Kidney damage phenylhydrazine and methods of its pathogenetic correction //Journal of Education, Health and Sport. – 2017. – Т. 7. – №. 3. – С. 239-257.