
СПІВЗАСНОВНИКИ

Національна академія медичних наук України •
Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України» •
Державне підприємство «Державний експертний центр
Міністерства охорони здоров'я України» •
Всеукраїнська громадська організація «Асоціація фармакологів України»

ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ЛІКАРСЬКА ТОКСИКОЛОГІЯ PHARMACOLOGY AND DRUG TOXICOLOGY

Науково-практичне видання

Журнал заснований у серпні 2007 р.

Виходить 1 раз на 2 місяці

№ 2(38)/2014

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

- Важнича О. М., Боброва Н. О., Ганчо О. В., Лобань Г. А.* Наночастинки срібла: антибактеріальні та антифунгальні властивості 3
- Кізуб І. В., Клименко К. І., Соловійов А. І.* Участь протейнінази С у механізмах порушення судинного тонуусу за умов цукрового діабету. Частина 2..... 12
- Петруша Ю. Ю., Омелянчик Л. О.* Синтез та біологічна активність похідних 1,2,3,4-тетрагідроакридину..... 18

СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

- Гончар-Чердаклі Л. Г., Осадчук К. О., Ворожбит А. П.* Дослідження домінантного міжпівкульного впливу антиконвульсантів на електрофізіологічні показники функціонування мозку 25
- Цивунін В. В., Штриголь С. Ю., Загинайченко Б. А.* Дослідження психотропних властивостей потенційних рослинних антиконвульсантів 30

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

- Лук'янчук В. Д., Поліщук Є. М., Сейфулліна І. Й., Рисухіна Н. В., Марцинко О. Е., Чебаненко О. А.* Порівняльна оцінка фармакологічної активності координаційних сполук біс(цитрато)германатів та станатів на моделі закритої черепно-мозкової травми..... 36
- Мокляк Є. В., Власенко Н. О., Важнича О. М.* Уміст еритропоетину при корекції похідним 3-гідроксипіридину гострого стресу з різним ступенем ушкодження системи еритроноу 44
- Сапегін В. І.* Вплив L-лізину есцинату на локальний кровообіг у стінці кишечника за умов моделювання інтраабдомінальної гіпертензії 49
-

Семенченко О. М., Цуркан О. О., Корабльова О. А., Бурмака О. В. Експериментальне вивчення протівивразкової активності трави деяких видів роду <i>Salvia L.</i> на моделі спиртово-преднізолонової виразки шлунка в щурів	55
Тозюк О. Ю., Степанюк Г. І. Порівняльна оцінка впливу натрію 2-(тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)-ацетату та бемітилу на процес відновлення фізичної працездатності щурів	59
Ярош О. К., Нагорна О. О., Кучеренко Л. І., Бідненко О. С. Параметри фармакокінетики таблеток «Ангіолін» у крові щурів після перорального введення	64
Shayakhmetova G. M. Testicular damage in rats after co-administration of anti-tuberculosis drugs in different combinations.....	70

КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Дроговоз С. М., Лукьянчук В. Д., Шейман Б. С., Торяник Э. Л., Кононенко А. В. Опасность передозировки гипотензивных препаратов	77
Шеремета Л. М. Гепатотоксичність лікарських засобів при клінічному застосуванні	84

БІОЕТИКА

Добреля Н. В., Стрелков Є. В., Бухтіарова Т. А. Розвиток європейського законодавства в сфері використання тварин у наукових експериментах	88
--	----

ОСОБИСТОСТІ

Владислав Матвійович Овруцький. 1936–2014	92
---	----

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ	93
----------------------------------	----

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ	97
----------------------------------	----

TO AUTHORS	100
-------------------------	-----

СОДЕРЖАНИЕ	103
-------------------------	-----

CONTENT	104
----------------------	-----

О. М. Важнича, Н. О. Боброва, О. В. Ганчо, Г. А. Лобань

Наночастинки срібла: антибактеріальні та антифунгальні властивості

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Ключові слова: наночастинки, срібло, антибактеріальна дія, протигрибкова дія

Незважаючи на швидкий прогрес у створенні лікарських препаратів і розвитку фармацевтичних технологій, інфекційні захворювання, викликані бактеріями, продовжують залишатися однією з найбільших проблем охорони здоров'я в усьому світі, вражаючи мільйони людей щорічно [1]. Майже всі мікроорганізми здатні протистояти фармакотерапевтичним втручанням завдяки швидкій еволюції генетичних механізмів, що веде до формування резистентності та викликає необхідність перегляду стратегії й тактики застосування антибіотиків [2]. На сучасному етапі змінилися вимоги не тільки до антибіотиків, а й до антисептичних препаратів, які мають бути потужними, тривало діючими, активними проти резистентних штамів мікроорганізмів і при цьому не порушувати мікробіоценоз шкіри, особливо стабільність резидентної популяції мікробів [3]. Водночас великі фармацевтичні компанії втрачають інтерес до розробки нових протимікробних засобів, переводять свої капіталовкладення в набагато вигідніші дослідження, що зменшує появу нових хіміотерапевтиків та антисептиків на фармацевтичному ринку [4].

Нові нетрадиційні рішення потрібні для подолання таких проблем. У цьому зв'язку інтерес викликають розробки на основі нанотехнологій [5, 6]. Як відомо, фізико-хімічні та біологічні властивості наночастинок (НЧ) відрізняються від їхніх макроаналогів за рахунок збільшення хімічного потенціалу, великої питомої поверхні та, як наслідок, високої проникаючої здатності та адсорбційної активності [7]. Така модифікація властивостей забезпечує

високий ушкоджуючий ефект НЧ тих речовин, які в звичайному стані мають антимікробну активність, причому виразність протимікробних ефектів залежить від технології синтезу частинок, їхнього розміру, хімічної природи покриття, стабільності отриманих систем, виду мікроорганізму тощо [8].

Серед перспективних засобів на ринку нових протимікробних агентів, пов'язаних із нанотехнологіями, одну з перших позицій посідають НЧ срібла, які мають широкий діапазон антибактеріальної, противірусної та протипаразитарної активності за досить рентабельних процесів синтезу [9–12]. Наносрібло інтенсивно вивчається в усьому світі, тим не менш, багато важливих питань щодо цих НЧ залишаються відкритими. До них належать молекулярні механізми, що регулюють взаємодію з мікробною клітиною, фізико-хімічні параметри, які лежать в основі їхньої токсичності для прокаріотів, відсутність стандартизованих методів і матеріалів для промислового одержання, а також невизначеність у загальній стратегії розвитку та застосування антибактеріальних препаратів на основі НЧ срібла.

У цьому огляді ми аналізуємо експериментальні дані щодо одержання антибактеріальних і протигрибкових ефектів НЧ срібла з метою визначення, принаймні частково, їхнього місця серед інших препаратів срібла та перспективності розвитку цих частинок як антисептичних засобів майбутнього.

Слід відмітити, що застосування срібла має давню традицію й проаналізовано в багатьох працях [13, 14]. Як лікарські препарати використовують солі, оксиди, хелатні та органічні сполуки срібла, а також його аквазолі [14]. Аквазолі срібла, по суті, можна

розглядати як нанорідини, котрі містять НЧ цього металу у великому розведенні, але для науково-дослідної роботи на світовому ринку пропонуються дисперсії НЧ срібла з чітко визначеними розмірами, концентрацією та стабілізуючими речовинами. Зокрема, всесвітньо відома компанія Sigma-Aldrich пропонує понад 20 видів таких дисперсій [15].

Розглядаючи протимікробні властивості наносрібла, необхідно насамперед встановити, яким чином вони залежать від способу одержання та фізико-хімічних характеристик НЧ. Срібні НЧ мають розміри менші за 100 нм і містять 20–15 000 атомів срібла. Їх одержують різними методами, але найкращий метод для подальшого медичного застосування заснований на короткому електричному розряді між двома срібними електродами в деіонізованій воді [16]. Досліджуючи дію НЧ срібла, одержаних електролітичним шляхом, спостерігали більшу бактерицидну дію на грамнегативні бактерії, причому вплив на *E. coli* таких частинок був сильніший, ніж НЧ срібла, одержаних шляхом позаклітинного синтезу з сухим листям *Pongamia pinnata* [17].

Значна кількість методів одержання НЧ срібла, використаних для подальшого визначення протимікробної активності, ґрунтується на хімічних методах одержання [18–22]. Наприклад, було вивчено антимікробні властивості НЧ срібла в стабілізованих розчинах і в композиційній системі на основі високодисперсного кремнезему [18]. У цій роботі досліджено розчини НЧ срібла, одержаних шляхом хімічного відновлення нітрату срібла борогідратом натрію і стабілізованих додецилсульфатом натрію та полівінілпіролідом (ПВП) за середнього розміру частинок 8–12 нм та концентрації срібла 0,0016–0,0004 %. Визначаючи їхню активність стосовно штамів стафілококу, кишкової палички та *C. albicans* у рідких середовищах, автори встановили високу антимікробну активність як у непокритих НЧ срібла, так і в композитних частинок проти всіх тест-культур, але чутли-

вість стафілококів виявилася найменшою, а чутливість *C. albicans* – найбільшою. Дещо нижча активність композитних НЧ у цій роботі була пояснена тим, що частина активних груп срібла витрачається на взаємодію зі стабілізуючими агентами.

Розглядаючи НЧ срібла, які одержані в тій самій хімічній реакції з борогідратом натрію і стабілізовані ПВП, спостерігали бактерицидну дію стосовно *S. aureus* та *E. coli*. Автори пояснили це вивільненням іонів срібла із ПВП завдяки наявності аміногруп у структурі цього полімеру, які сприяють обміну катіонів срібла на катіони гідрогену. Однак у даному випадку мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) для *S. aureus* була меншою, ніж для *E. coli* [19].

Описано антибактеріальну активність срібних НЧ малого розміру (6–10 нм), синтезованих шляхом хімічного відновлення в гідрофільному середовищі і стабілізованих монтморілонітом разом з хітозаном [20]. При цьому показано, що в диск-дифузійному методі з використанням агару *Mueller Hinton* такі композитні НЧ виявили високу активність проти грампозитивних (*S. aureus* та метицилін-резистентний *S. aureus*) і грамнегативних (*E. coli*, *E. coli* O157:H7 та *P. aeruginosa*) бактерій.

НЧ срібла на поверхні кристалів гексаніобату калію мали бактерицидну дію проти *E. coli*, причому ця дія була пов'язана саме з НЧ срібла, а не з іонами срібла, які знаходилися всередині кристалів, і зростала зі зменшенням розміру НЧ. Це дозволило припустити, що частинки різного розміру по-різному взаємодіють з клітинною стінкою бактерій [21].

Здатність обмежувати формування біоплівки була визначена в НЧ срібла стосовно кількох клінічно значущих патогенів, включаючи *P. aeruginosa* [22]. Значне зменшення кількості колонієутворюючих одиниць спостерігали при концентрації наносрібла 100 мг/мл і турбулентному режимі культивування, пригнічувався ріст бактерій і утворення екзополісахаридного матриксу в мікробів-колонізаторів біоплівки на поверхні полікарбонатних мембран. Це дослідження з'ясовує корисність НЧ

срібла як антибактеріальних засобів у захисті від інфекцій, опосередкованих утворенням біоплівки.

Ще один шлях для одержання НЧ срібла – електронно-променева технологія й осадження в неорганічні (наприклад, кристали натрію хлориду) та органічні (наприклад, ПВП) матриці [23]. У такий спосіб можна одержати значні кількості порошкоподібного конденсату наносрібла, що робить зазначену технологію перспективною для промислового використання в поєднанні з адекватними методами стандартизації виготовлених НЧ. Після солюбілізації та стабілізації такі НЧ також демонструють суттєву антибактеріальну активність стосовно еталонних штамів мікроорганізмів [24].

Останнім часом набувають поширення екологічні методи синтезу НЧ срібла з використанням мікроорганізмів та (або) екстрактів з біологічної сировини (green synthesis) [25–29]. Зокрема, описаний спосіб одержання НЧ срібла за допомогою екстракту *Chrysanthemum indicum* зі значною протимікробною активністю щодо *K. pneumoniae*, *E. coli* та *P. aeruginosa* [25]. НЧ, одержані з нітрату срібла за допомогою водного екстракту з лишайника *Parmotrema praesorediosum* і досліджені проти 8 видів мікроорганізмів за допомогою дискдифузійного методу, також виявляли переважну активність проти грамнегативних бактерій [26]. Використання в «зеленому синтезі» екстракту гриба «чага» (*Inonotus obliquus*) дало можливість одержати НЧ срібла (14–35 нм), які не тільки були активні проти грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів, а й мали антиоксидантні властивості та антипроліферативну дію стосовно клітин раку [27]. Шляхом біосинтезу також були одержані НЧ срібла, покриті поліфенолами (конденсованими танінами) з плодів *Piper longum*, які за протимікробною дією перевершували вихідний рослинний екстракт і додатково мали антиоксидантні властивості [28]. Наведені дані свідчать, що покриття срібних НЧ природними агентами не тільки зберігає їхній протимікробний потенціал, а й надає їм

додаткові ефекти, які можуть стати в нагоді для подолання токсичності наносрібла, яка лімітує його клінічне застосування.

Пригнічення розвитку мікроорганізмів за допомогою НЧ срібла супроводжується ефектом післядії. Існує ґрунтовна робота з розробки рецептури антимікробного гелю, який містить НЧ срібла (7–20 нм), синтезовані з використанням біостабілізації [29]. У цьому дослідженні повідомляється, що МІК і мінімальна бактерицидна концентрація (МБК) таких НЧ проти стандартних еталонних культур, а також проти мікроорганізмів з множинною резистентністю становили 0,78–6,25 мкг/мл і 12,5 мкг/мл відповідно, а грамнегативні бактерії ушкоджувалися сильніше, ніж грампозитивні. Ефект післядії, тобто час, протягом якого зростання бактерій залишається пригніченим після короткого впливу протимікробного агента, варіював залежно від типу мікроорганізму і становив від 10,5 год для *P. aeruginosa* до 1,3–1,6 год для *Staphylococcus sp.* та *C. albicans*.

НЧ срібла виявились активними не тільки проти еталонних штамів мікроорганізмів, а й проти бактерій ротової порожнини [30]. Описано, що композитні НЧ на основі лактози, хітозану і наносрібла мали антибактеріальну активність у серійних розведеннях культур *S. mitis*, *S. mutans* та *S. oralis*, одержаних на різних фазах формування біоплівки та зі зразків слини. Стосовно вільно розташованих бактерій композитні НЧ срібла показали бактерицидний ефект для всіх штамів при 0,1 %, крім *S. mitis* ATCC 6249, який інгібувався на один ступінь менше. При сформованій біоплівці НЧ при значенні 0,2 % були здатні інгібувати ріст бактерій як у фазі супернатанта, так і зрілої біоплівки. Для *S. mitis* ATCC 6249 концентрація інгібування біоплівки становила 0,1 %. У субінгібуючих концентраціях НЧ залежно до концентрації зменшували адгезію стрептококів на поверхні полістиролу, що вказує на перспективність НЧ срібла з певним покриттям для запобігання утворення біоплівки на поверхні емалі зубів.

Нині, коли третина населення світу інфікована туберкульозом, а множинно резистентні форми цього захворювання дають високу летальність, НЧ срібла досліджуються як альтернатива існуючим засобам для лікування цієї інфекції. На клінічних ізолятах показано, що НЧ срібла, покриті бичачим сироватковим альбуміном, діють як потужний протитуберкульозний засіб [31]. Біогенні НЧ срібла впливали на внутрішньоклітинно розташовані мікобактерії, причому *M. smegmatis* були більш сприйнятливі до наносрібла порівняно з *M. marinum*, а ефект проти *M. smegmatis* підсилювався в поєднанні з відомим туберкулоостатиком рифампіцином [32].

Як бачимо, незалежно від способу одержання, НЧ срібла мають високу батерицидну активність, хоча більшість дослідників єдині в тому, що чутливість грамнегативних та грампозитивних мікроорганізмів до наносрібла неоднакова і виразніша в представників грамнегативних видів.

Відома виключно висока активність срібла, особливо в нанокристалічній формі, щодо різноманітних патогенних та умовно патогенних грибів [33, 34]. НЧ срібла показали високу противіробкову активність (50 % інгібування при 75 мкг/мл з противіробковим індексом 55,5 % проти *Aspergillus niger* і МІК 25 мкг/мл проти *C. albicans*) [29]. Описано, що існує залежність чутливості дріжджоподібних грибків до наносрібла від фази зростання [35]. Зокрема, розвиток дріжджових клітин пригнічувався дією іонів срібла і наносріблом у фазі лінійного росту. Однак при збільшенні чисельності клітин на стадії логарифмічного зростання противіробковий ефект іонів срібла був значно слабше і носив фунгістатичний характер, тоді як у присутності кластерів срібла – фунгіцидний. Уважають, що механізм фунгіцидної дії НЧ срібла подібний до взаємодії іонного срібла з клітинною стінкою грибів, зокрема *C. albicans*, та полягає в необоротному зв'язуванні з цистеїновим залишком, який містить тіолову групу в ізомеразі фосфоманози, перериває синтез стінок клітини і, у свою

чергу, веде до втрати незамінних поживних речовин і загибелі.

Наносрібло не тільки справляє протимікробний ефект, а й виявляє синергізм з іншими антибіотиками та антисептиками. Описано, що активність НЧ срібла значно зростала в присутності коричневого альдегіду – рослинної речовини з антисептичними властивостями [36]. При цьому спостерігали аддикцію проти всіх бактеріальних штамів, у тому числі проти спороутворюючих *B. cereus* та *C. perfringens*, відомих своєю стійкістю. Бактерицидна дія була дуже швидкою.

Кон'югація НЧ срібла з бацитрацином А та поліміксином Е створювала додаткові антибактеріальні можливості проти грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів: відбувалося 10-разове збільшення бактерицидної активності без виникнення резистентності бактерій [37]. Функціоналізовані мембранотропними антибіотиками НЧ викликали дезорганізацію бактеріальної мембрани та витоки цитоплазматичного вмісту.

Синергетичний потенціал НЧ срібла (8–12 нм), синтезованих за участю *Acinetobacter*, щодо 14 антибіотиків проти 7 патогенів визначали методами дискдифузії, мікророзведень і МБК [38]. Найвищий синергізм відмічався з ванкоміцином для *E. aerogenes*, коли спостерігалось збільшення зони інгібування в 3,8 разу після додавання НЧ разом з цим препаратом. При експозиції НЧ срібла з антибіотиками знижувалася МІК. Цікаво, що *A. baumannii* з множинною лікарською стійкістю під впливом наносрібла набувала чутливості до антибіотиків, крім цефалоспоринів. Аналогічним чином поведився й стійкий до ванкоміцину штам *S. mutans*, що свідчить про те, що біогенні НЧ срібла діють синергічно з β -лактамами антибіотиками.

Синергічність дії наносрібла з антибіотиками, особливо з інгібіторами синтезу клітинної стінки, підтверджено й в іншому дослідженні, де показано, що НЧ срібла, синтезовані з використанням екстракту *Trichoderma viride* (5–40 нм), не тільки активні проти грампозитивних та грамнега-

тивних бактерій, а й підсилюють ефект ампіциліну, канаміцину, еритроміцину та хлорамфеніколу з максимальним підвищенням активності ампіциліну [39]. Водночас існують й протилежні факти: при комбінуванні біологічно стабілізованих НЧ срібла з антибіотиками спостерігали не тільки синергічні (цефтазидим) та адитивні ефекти (стрептоміцин, канаміцин, поліміксин), а й антагоністичні (хлорамфенікол) [29].

Виходячи із структури НЧ срібла, виникає питання, що саме діє на бактерії та гриби при їхній експозиції з дисперсіями наносрібла – іони цього металу, кластери атомів срібла чи системи срібло-кисень. Більшість авторів вважають, що відбувається вивільнення іонів срібла з НЧ, які й справляють протимікробну дію [17, 18]. Разом з цим припускають, що системи срібло-кисень-вода можуть відігравати велику роль у реалізації бактерицидних властивостей розбавлених колоїдних розчинів та нанорідин срібла, оскільки в біологічно активних аквасолях срібла, де виявляються частинки розміром 20–30 нм та субструктурою з атомних кластерів (5–7 нм), присутні оксиди та (або) гідроксиди срібла [40].

Ці висновки узгоджуються з результатами аналізу НЧ срібла, осаджених у кристали натрію хлориду електронно-променевим випаровуванням і конденсацією у вакуумі [41]. Хоча в даному випадку НЧ срібла знаходяться не в колоїдному розчині, а являють собою конденсат. Вони містять поряд із сріблом системи срібло-кисень, можливо у вигляді плівки на поверхні кластерів зероувалентного срібла. Однак, як і в попередньому випадку, рідкі дисперсні системи на основі зазначених НЧ є активними протимікробними агентами [42].

Відаючи належне ролі іонів срібла, вивільнених з НЧ, зазначають, що дія наносрібла не тотожна дії іонів з солі срібла, можливо за існуючої різниці їхньої доставки в клітини мішені [42]. Зокрема, вплив іонів срібла на кишкову паличку характеризувався зміною експресії 188 генів (відповідальних за білки теплового шоку, які пов'язані з гомеостазом міді, заліза і сульфату та

інших). Крім того, іони срібла індукували окисно-відновний стрес, пов'язаний з багаторазовим підвищенням активності гена-регулятора транскрипції *soxS*. Водночас срібло (або його іони), вивільнене з НЧ, індукувало зміни регулювання 379 генів, причому 309 генів були однозначно регульовані тільки НЧ срібла. Коли досліджували шляхи відгуку геному кишкової палички на різні НЧ срібла порівняно з сріблом нітратом, то виявили, що лише в одному випадку (для частинок з розміром 10 нм, покритих цитратом натрію) такий шлях був статистично подібний до такого в іонів срібла з його солі.

Антибактеріальна дія НЧ срібла значною мірою залежить від їхнього розміру та поверхневих характеристик [43]. При застосуванні НЧ з однаковим цитратним покриттям менший розмір частинок асоціювався з більшою розчинністю іонів срібла та його токсичністю для *E. coli*. Водночас відгук мікроорганізму на НЧ срібла, що вкриті поліетиленімідом, більше нагадував такий при застосуванні інших катіонних НЧ, які не містять срібла. Висновок щодо важливості стану поверхні НЧ срібла для їхньої протимікробної дії підкріплюється дослідженням синергічного бактерицидного ефекту наносрібла та ультрафіолетового випромінювання [44]. Цей ефект був подібний до результату обробки НЧ пероксидом водню і пов'язаний з тим, що НЧ з окисненою поверхнею вивільняють більше іонів срібла, які взаємодіють із сульфгідрильними групами молекул у клітинах бактерій. Провідна роль поверхневих контактів у реалізації антибактеріальної активності НЧ срібла підтверджується й тим, що відокремлення бактеріальних клітин мембраною, непроникною для таких частинок, суттєво редукувало зазначену дію [45].

Антибактеріальна дія наносрібла є не тільки розмір-залежною, а й залежною від виду досліджуваного мікроорганізму. Це видно з наведених вище робіт [18, 19, 21, 22, 29], а також із дослідження, у якому НЧ срібла розміром 5, 15 та 55 нм піддавали бактеріоло-

гічному аналізу із визначенням зон та кривих інгібування росту, а також кількості колоній для *E. coli*, *S. aureus* та *B. subtilis* [46]. На відміну від більшості робіт у цьому дослідженні грам-позитивні бактерії були більш чутливі до наносрібла, причому серед них *B. subtilis* виявила найвищу чутливість як в окремій, так і в змішаній культурі. Це корелювало з тим, що втрата цукрів через ушкоджену мембрану була найбільшою в *B. subtilis* поміж трьох досліджених видів мікроорганізмів. Зазначають також, що *P. aeruginosa* має високу чутливість до наносрібла завдяки притаманній їй тенденції до посиленого контакту з НЧ срібла [45].

Розходження в ступені чутливості до наносрібла грамнегативної та грам-позитивної мікрофлори автори пояснюють особливостями будови клітинної оболонки [47]. Грамнегативні бактерії мають більш тонку клітинну стінку, що включає біомолекулярний шар пептидоглікану і не містить тейхоївої кислоти. Наявність у зовнішній мембрані фосфоліпідного бішару, полісахаридів і ліпополісахариднопротеїнового комплексу, а в периплазмі – ферментів (рибонуклеази, фосфатази, пеніцилінази та інших) робить грамнегативні бактерії уразливими мішенями для срібла. Водночас грам-позитивні бактерії, зокрема *S. aureus*, мають простіше організовану, але потужнішу клітинну стінку, що складається з множинних шарів пептидоглікану, які включають унікальні полімери тейхоївих кислот і слугують основним каркасом мікробної клітини. Ферменти, які містять тіолові групи, розташовані в цитоплазматичній мембрані, що знаходиться під потужним шаром пептидоглікану (муреїну). Тому інактивація сульфгідрильних груп іонами або кластерами срібла слабша та «розтягнута» у часі порівняно з їхньою дією на грамнегативні бактерії [48].

При аналізі антибактеріальної та протигрибкової активності НЧ срібла не можна залишити поза увагою їхній первинний фармакологічний ефект у мікробній клітині. Оскільки його, принаймні частково, зумовлюють

утворені іони срібла, вочевидь, мають місце такі процеси, притаманні іншим препаратам срібла, як взаємодія з тіоловими групами пептидогліканів клітинної стінки бактерій та білками мембран, що визначає лізис мікробних клітин [49]. Іони срібла також можуть взаємодіяти з бактеріальною ДНК і порушувати її реплікацію та синтез білків.

Крім відомих аспектів механізмів протимікробної дії НЧ срібла, зумовлених вивільненими іонами срібла, описано й нові механізми. Зокрема, це стосується протигрибкової дії. Вважають, що вона пов'язана не тільки з порушеннями проникності клітинної стінки внаслідок взаємодії наносрібла з тіоловими групами ферментів [35], а й виникає за рахунок індукції апоптозу підвищеною кількістю гідроксильних радикалів, продукція яких посилюється при обробці грибів (*C. albicans*) НЧ срібла [50].

Описуючи протимікробні ефекти НЧ срібла, зазвичай акцентують увагу на можливості їхнього застосування у випадках антибіотико-резистентної інфекції [51], однак існують і механізми бактеріальної адаптації та захисту мікробів від дії самого наносрібла [52]. Продемонстровано, що позаклітинні полімерні речовини, які продукуються бактеріями, утворюють бар'єр, який запобігає проникненню іонів срібла всередину клітини й зменшує його ефект. Іони срібла знову відновлюються до НЧ, які іммобілізуються полімерним позаклітинним матриксом, що здійснюється за участю геміацетильних груп цукрів.

Отже, незалежно від способу одержання НЧ срібла мають протимікробну, насамперед, антибактеріальну та протигрибкову дію, виразність якої залежить від розміру, характеру покриття та стану поверхні. Така дія зумовлюється вивільненням іонів срібла, але характеризується певною специфічністю, що визначається формуванням наночастинково-клітинного інтерфейсу. Дані літератури переконливо свідчать, що антибактеріальні ефекти наносрібла сильніше виявляються стосовно грамнегативної

мікрофлори, поширюються на біо-фільм- та споруутворюючі штами, а також на мікроорганізми з множинною резистентністю до антибіотиків. Характерний синергізм з антибіотиками, особливо інгібіторами синтезу клітинної стінки та препаратами, що порушують структуру клітинної мембрани, вочевидь, зумовлюється спрямуванням впливу НЧ срібла на ті самі морфо-функціональні утворення бактерій, але за різних точок прикладання дії. Як

бачимо, навіть короткий аналіз літературних джерел показує, що існує широка експериментальна база для створення нових протимікробних засобів на основі НЧ срібла. Стандартизація методів дослідження з метою порівняння результатів і виділення лідерних наноконпозицій на основі срібла, а також подальше вивчення співвідношення користь/риск таких НЧ для макроорганізму може стимулювати прогрес у даній сфері.

1. Global trends in emerging infectious diseases / K. E. Jones, N. G. Patel, M. A. Levy [et al.] // *Nature*. – 2008. – V. 451, № 7171. – P. 990–993.
2. Киричек Л. Т. Антибиотики в современной химиотерапии / Л. Т. Киричек // *Международный медицинский журнал*. – 2003. – № 1. – С. 118–121.
3. Антисептики у профілактиці і лікуванні інфекцій / Г. К. Палій, Т. О. Корет, В. Г. Палій [та ін.]. – К. : Здоров'я, 1997. – 201 с.
4. Фещенко Ю. И. Рациональная антибиотикотерапия больных с инфекциями нижних дыхательных путей / Ю. И. Фещенко, А. Я. Дзюблик // II Міжнародний конгрес з антиінфекційної хіміотерапії, 10–11 грудня 2009 року, Київ : матеріали конгресу. – Український пульмонологічний журнал. – 2009. – № 4. – С. 5–8.
5. Pelgrift R. Y. Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance / R. Y. Pelgrift, A. J. Friedman // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2013. – V. 65, № 13. – 14. – P. 1803–1815.
6. Ульберг З. Нанотехнології в медицині: роль колоїдно-хімічних процесів / З. Ульберг, Т. Грузіна, О. Карпов // *Вісник НАН України*. – 2008. – № 8. – С. 28–41.
7. Методические подходы к оценке безопасности наноматериалов / Г. Г. Онищенко, А. И. Арчаков, В. В. Бессонов [и др.] // *Гигиена и санитария*. – 2007. – № 6. – С. 3–10.
8. Бактерицидные и каталитические свойства стабильных металлических наночастиц в обратных мицеллах / Е. М. Егорова, А. А. Ревина, Т. Н. Ростовщикова [и др.] // *Вестник Московского университета. Сер. 2. Химия*. – 2001. – Т. 42, № 5. – С. 332–338.
9. Губин С. П. Наночастицы благородных металлов и материалы на их основе / С. П. Губин, Г. Ю. Юрков, Н. А. Катаева. – М. : ИОНХ РАН, 2006. – 155 с.
10. Чекман І. С. Нанонаука: перспективи наукових досліджень / І. С. Чекман // *Наука та інновації*. – 2009. – Т. 5, № 3. – С. 89–93.
11. Chopra I. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: useful development or cause for concern? / I. Chopra // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2007. – V. 59, №4. – P. 587–590.
12. Rizzello L. Nanotechnology tools for antibacterial materials / L. Rizzello, R. Cingolani, P. P. Pompa // *Nanomedicine (Lond)*. – 2013. – V. 8, № 5. – P. 807–821.
13. Серебро в медицине / [Благитко Е. М., Бурмистров В. А., Колесников А. П. и др.]. – Новосибирск : Наука-центр, 2004. – 256 с.
14. Препарати срібла: вчора, сьогодні і завтра / О. Б. Щербаков, Г. І. Корчак, О. В. Сурмашева [та ін.] // *Фармацевтичний журнал*. – 2006. – № 5. – С. 45–57.
15. Sigma-Aldrich Online Catalog [Electronic resource]. – Regimen of access : www.sigmaaldrich.com/catalog/AdvancedSearchPage.do
16. Разрядно-импульсные системы производства нанокolloидных растворов биологически активных металлов методом объемного электроискрового диспергирования / А. А. Щерба, С. Н. Захарченко, К. Г. Лопатко [и др.] // *Праці ІЕД НАНУ*. – 2010. – Вип. 26. – С. 152–160.
17. Theivasanthi T. Studies of silver nanoparticles effects on microorganisms / T. Theivasanthi, M. Alagar // *Ann. Biol. Res.* – 2011. – V. 2, № 3. – P. 82–87.
18. Антимикробная активность наночастиц серебра в стабилизированных растворах и в композиционной системе на основе высокодисперсного кремнезема / А. М. Сердюк, А. И. Мищенко, Е. В. Сурмашева [и др.] // *Профілактична медицина*. – 2009. – № 4. – С. 12–17.
19. Synthesis and characterization of silver nanoparticles for antibacterial activity / B. Sadeghi, M. Jamali, Sh. Kia [et al.] // *Int. J. Nano. Dim.* – 2010. – V. 1, № 2. – P. 119–124.
20. Synthesis and characterization of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites by chemical reduction method and their antibacterial activity / K. Shameli, M. Bin Ahmad, M. Zargar [et al.] // *Int. J. Nanomedicine*. – 2011. – V. 6. – P. 271–284.
21. Selective synthesis of silver nanoparticles onto potassium hexaniobate: structural organisation with bactericidal properties / E. de Souza, J.M. Silva, M. Pastorello [et al.] // *Chemphyschem*. – 2013. – V. 14, № 18. – P. 4075–4083.

22. Anti-biofilm activity of silver nanoparticles against different microorganisms / Martinez-Gutierrez F, Boegli L., Agostinho A. [et al.] // Biofouling. – 2013. – V. 29, № 6. – P. 651–660.
23. Мовчан Б. А. Электронно-лучевая нанотехнология и новые материалы в медицине – первые шаги / Мовчан Б. А. // Вісник фармакології та фармації. – 2007. – № 12. – С. 5–13.
24. Антибактеріальна активність нового фармацевтичного інгредієнта – наноконпозиції срібла / Б. О. Мовчан, І. С. Чекман, С. Б. Білоус [та ін.] // Профілактична медицина. – 2014. – № 1–2. – С. 7–14.
25. Rapid green synthesis of silver nanoparticles from *Chrysanthemum indicum* L and its antibacterial and cytotoxic effects: an *in vitro* study / S. Arokiyaraj, M. V. Arasu, S. Vincent [et al.] // Int. J. Nanomedicine. – 2014. – V. 9. – P. 379–388.
26. Synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activity using the lichen *Parmotrema praesorediosum* / Mie R., Samsudin M.W., Din L.B. [et al.] // Int J. Nanomedicine. – 2014. – V. 9. – P. 121–127.
27. Mycosynthesis: Antibacterial, antioxidant and antiproliferative activities of silver nanoparticles synthesized from *Inonotus obliquus* (Chaga mushroom) extract / P. C. Nagajyothi, T. V. Sreekanth, J. I. Lee J [et al.] // Photochem. Photobiol. B. – 2013. – V. 130. – P. 299–304.
28. Evaluation of antioxidant, antibacterial and cytotoxic effects of green synthesized silver nanoparticles by *Piper longum* fruit / N. J. Reddy, D. Nagoor Vali, M. Rani [et al.] // Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl. – 2014. – V. 34. – P. 115–122.
29. Silver nanoparticles in therapeutics: development of an antimicrobial gel formulation for topical use / J. Jain, S. Arora, J. M. Rajwade [et al.] // Mol. Pharm. – 2009. – V. 66, № 5. – P. 1388–1401.
30. The effect of a silver nanoparticle polysaccharide system on streptococcal and saliva-derived biofilms / M. Di Giulio, S. Di Bartolomeo, E. Di Campli [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2013. – V. 14, № 7. – P. 13615–13625.
31. Nature-inspired novel drug design paradigm using nanosilver: efficacy on multi-drug-resistant clinical isolates of tuberculosis / D. Seth, S. R. Choudhury, S. Pradhan [et al.] // Curr. Microbiol. – 2011. – V. 62, № 3. – P. 715–726.
32. Cationic antimicrobial peptides and biogenic silver nanoparticles kill mycobacteria without eliciting DNA damage and cytotoxicity in mouse macrophages / S. Mohanty, P. Jena, R. Mehta [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2013. – V. 57, № 8. – P. 3688–3698.
33. Некоторые особенности воздействия кластерного серебра на дрожжевые клетки *Candida albicans* / А. А. Ревина, Е. К. Баранова, А. Л. Мулюкин [и др.] // Исследовано в России. – 2005. – С. 1403–1409 [Электронный ресурс]. – Режим доступа к журн.: <http://www.zhurnal.ape.relam.ru/articles/2005/139.pdf>.
34. Андрейчин М. А. Таємнича хвороба Моргелонів / М. А. Андрейчин, В. В. Бігуняк, В. В. Дем'яненко // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2010. – № 5–6. – С. 5–10.
35. Mechanism of irreversible inactivation of phosphomannose isomerases by silver ions and flazid / T. N. Wells, P. Scully, G. Paravicini [et al.] // Biochemistry. – 1995. – V. 34, № 24. – P. 7896–7903.
36. Synergistic action of cinnamaldehyde with silver nanoparticles against spore-forming bacteria: a case for judicious use of silver nanoparticles for antibacterial applications / I. N. Ghosh, S. D. Patil, T. K. Sharma [et al.] // Int. J. Nanomedicine. – 2013. – V. 8. – P. 4721–4731.
37. Bioconjugated nanoparticles for attachment and penetration into pathogenic bacteria / L. Mei, Z. Lu, W. Zhang [et al.] // Biomaterials. – 2013. – V. 34, № 38. – P. 10328–10337.
38. Synthesis, optimization, and characterization of silver nanoparticles from *Acinetobacter calcoaceticus* and their enhanced antibacterial activity when combined with antibiotics / R. Singh, P. Wagh, S. Wadhvani [et al.] // Int. J. Nanomedicine. – 2013. – V. 8. – P. 4277–4290.
39. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria / A. M. Fayaz, K. Balaji, M. Girilal [et al.] // Nanomedicine. – 2010. – V. 6, № 1. – P. 103–109.
40. Ultradilute Ag-aquasols with extraordinary bactericidal properties: role of the system Ag-O-H₂O / R. Roy, M. R. Hoover, A. S. Bhalla [et al.] // Mat. Res. Innovations. – 2007. – V. 11, № 1. – P. 3–18.
41. Пат. 92556 Україна, МПК В82В 3/00, С23С 14/24, С23С 14/54. Спосіб одержання наночастинок системи метал-кисень із заданим складом електронно-променевим випаровуванням і конденсацією у вакуумі / Б. Є. Патон, Б. О. Мовчан, Ю. А. Курапов, К. Ю. Яковчук. Опубл. 10.11.10, бюл. № 21.
42. Silver nanoparticle enhanced silver ion stress response in *Escherichia coli* K12 / J. S. McQuillan, H. G. Infante, E. Stokes [et al.] // Nanotoxicology. – 2012. – V. 6. – P. 857–866.
43. Chernousova S. Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal / S. Chernousova, M. Epple // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. – 2013. – V. 52, № 6. – P. 1636–1653.
44. Zhao X. Synergistic bactericidal effect by combined exposure to Ag nanoparticles and UVA / X. Zhao, T. Toyooka, Y. Ibuki // Sci. Total. Environ. – 2013. – V. 458–460. – P. 54–62.
45. Particle-cell contact enhances antibacterial activity of silver nanoparticles / O. Bondarenko, A. Ivask, A. Käkinen [et al.] // PLoS One. – 2013. – V. 8, № 5. – e64060 [Electronic resource]. – Regimen to access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3667828/>
46. Highly selective antibacterial activities of silver nanoparticles against *Bacillus subtilis* / J. Li, K. Rong, H. Zhao [et al.] // J. Nanosci. Nanotechnol. – 2013. – V. 13, № 10. – P. 6806–6813.

47. Микробиология и иммунология для стоматологов / Р. Дж. Ламонт, М. С. Лантц, Р. А. Берне, Д. Дж. Лебланк / [под ред. В. К. Леонтьева] ; пер. с англ. Смирнова И. В. – М. : Практическая медицина, 2010. – 504 с.
48. *Sondi I.* Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria / I. Sondi, B. Salopek-Sondi // *J. Colloid Interface Sc.* – 2004. – V. 275, № 1. – P. 177–182.
49. Silver nanoparticles are broad-spectrum bactericidal and virucidal compounds / H. H. Lara, E. N. Garza-Treviño, L. [et al.] // *J. Nanobiotechnology.* – 2011. – V. 9. – 30 [Electronic resource]. – Regimen of access; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3199605/>
50. Silver nanoparticles induce apoptotic cell death in *Candida albicans* through the increase of hydroxyl radicals / I. S. Hwang, J. Lee, J. H. Hwang [et al.] // *FEBS J.* – 2012. – V. 279, № 7. – P. 1327–1338.
51. Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria / M. K. Rai, S. D. Deshmukh, A. P. Ingle [et al.] // *J. Appl. Microbiol.* – 2012. – V. 112, № 5. – P. 841–852.
52. *Kang F.* Microbial extracellular polymeric substances reduce Ag (+) to silver nanoparticles and antagonize bactericidal activity / F. Kang, P. J. Alvarez, D. Zhu // *Environ. Sci. Technol.* – 2014. – V. 48, № 1. – P. 316–322.

Е. М. Важничая, Н. А. Боброва, О. В. Ганчо, Г. А. Лобань

Наночастицы серебра: антибактериальные и антифунгальные свойства

Представлен обзор литературы, в котором показано, что, независимо от способа получения, наночастицы (НЧ) серебра обладают антибактериальным и противогрибковым действием, выраженность которого зависит от размера, характера покрытия и состояния поверхности. Такое действие обусловлено высвобождением ионов серебра и определяется формированием интерфейса между НЧ и клеткой. Антибактериальные эффекты наносеребра сильнее проявляются в отношении грамотрицательной микрофлоры, распространяются на биофиль- и спорообразующие штаммы, а также на микроорганизмы с множественной резистентностью к антибиотикам. Характерный синергизм с антибиотиками, особенно ингибиторами синтеза клеточной стенки и препаратами, нарушающими структуру клеточной мембраны, очевидно, обусловлен направленностью влияния НЧ серебра на те же морфофункциональные образования бактерий, но при разных точках приложения действия.

Ключевые слова: наночастицы, серебро, антибактериальное действие, противогрибковое действие

Ye. M. Vazhnichaya, N. A. Bobrova, O. V. Hanch, G. A. Loban

Silver nanoparticles: antibacterial and antifungal properties

This review presents data on silver nanoparticles (NPs) antibacterial and antifungal activity, potency of which depends on the particle size, nature and condition of NP's surface coating. The action is due to release of silver ions and determined by the formation NP-cell interface. Examples of antibacterial action of silver NPs obtained in different ways (chemical reduction of silver nitrate, electron beam technology, and «green synthesis») are given. It is shown that such effect is inherent to NPs with different coatings, including polyvinylpyrrolidone, sodium dodecyl sulfate, chitosan, or polyphenols of plant origin. With this, coating of silver NPs by natural agents not only keeps their antimicrobial potential, but also provides them with additional effects (e.g., antioxidant) that may be useful in overcome of nanosilver toxicity, limiting its clinical application. Antibacterial effects of nanosilver are more pronounced in relation to gram-negative microorganisms (*K. pneumoniae*, *E. coli* and *P. aeruginosa*), applicable to biofilm- (*P. aeruginosa*) and spore-forming strains, as well as bacteria with multiple resistance to antibiotics. Silver NPs act as powerful anti-tubercular agent and *M. smegmatis* is more susceptible to them as compared to *M. marinum*. High activity of silver NPs is registered against pathogenic and opportunistic fungi (*Aspergillus niger*, *C. albicans*). Inhibition of microbial growth by using of silver NPs is accompanied by aftereffect observed for *P. aeruginosa*, *Staphylococcus sp.* and *C. albicans*. Characteristic synergy with antibiotics, especially cell wall synthesis inhibitors and drugs violating the structure of cell membrane is obviously due to the influence of silver NPs on the same morpho-functional parts of bacteria, but at different points of application. So, even a brief analysis of the literature shows that there is a broad experimental basis for the development of new antimicrobial agents based on silver NPs. Standardization of research methods to compare the results and to choose the leaders between coated silver NPs with evaluation of benefits and risks of such NPs for the organism would stimulate further progress in this area.

Key words: nanoparticles, silver, antibacterial, antifungal activity

Надійшла: 19.03.2014 р.

Контактна особа: Важнича Олена Митрофанівна, доктор медичних наук, професор, кафедра експериментальної та клінічної фармакології, ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Тел.: +38 0 66 634 72 73. Електронна пошта: vazhnichaya@ukr.net

І. В. Кізуб, К. І. Клименко, А. І. Соловійов

Участь протеїнкінази С у механізмах порушення судинного тону́су за умов цукрового діабету. Частина 2

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: цукровий діабет, ендотелій, гіперглікемія, протеїнкіназа С, реактивні форми кисню, судинний тонус, судинні гладенькі м'язи

ПКС-опосередковане утворення реактивних форм кисню (РФК) за умов цукрового діабету (ЦД). Встановлено, що активована за участю РФК протеїнкіназа С (ПКС) сама є важливим активатором нікотинамідаденіндинуклеотидфосфатоксидази (НАДФН-оксидази або НОК) у судинних тканинах за умов ЦД [1–3]. Результати багатьох досліджень свідчать про те, що найважливішу роль в активації НОК відіграють класичні ізоформи ПКС- α та - β [1, 4], нова ПКС- δ та атипова ПКС- ζ [1, 4, 5] за присутності високого рівня кінцевих продуктів глікації (КПГ) [1, 6].

Під час активації деякі субодиниці НОК фосфорилуються, переміщуються до цитоплазматичної мембрани за участю ПКС та формують каталітично активну оксидазу з подальшим утворенням РФК [5, 7]. У цьому механізмі ПКС активує малий G-білок Ras1, який фосфорилує цитозольні субодиниці НОК p47^{phox} та p67^{phox} [2, 4, 5, 7]. Було показано, що за гіперглікемічних умов ПКС- α та - β залучені до фосфорилування p47^{phox} [4]. Також було встановлено, що ПКС- β залучена як до транслокації p47^{phox}, так і до зростання експресії НОК2 ізоформи в судинній стінці діабетичних мишей [2]. До того ж, як це було продемонстровано на ендотеліоцитах мікросудин мишей [8] та аорті людини [9], ПКС може опосередковувати зростання активності НОК через підвищення експресії її субодиниці 22^{phox}. З іншого боку, у судинних тканинах щурів із стрептозотоцин-індукованим

діабетом було показано ПКС-опосередковану активацію каталітичної субодиниці НОК gp91^{phox} [10]. Також було встановлено, що ПКС залучена до індукції експресії НОК [2, 10]. За умов гіперглікемії ПКС може активувати одну з ізоформ адаптера фактора росту p66^{Shc}, який також викликає активацію Ras1 та запускає утворення РФК за участю НОК [11, 12]. Викликана гіперглікемією активація ізоформи ПКС- β призводить до фосфорилування p66^{Shc} цієї кіназою за Ser36 [13]. Важливість p66^{Shc} було показано у викликаній гіперглікемією ендотеліальної дисфункції та оксидативному стресі [14]. Більш того, опосередковане p66^{Shc} утворення РФК призводить до активації ПКС- β та пригнічує активність ендотеліальної NO-синтази (eNOC) [13].

Ці факти свідчать про те, що РФК є як активаторами ПКС, так і самі утворюються за рахунок активації ПКС, що формує позитивний зворотний зв'язок та підсилює загальне утворення РФК за умов ЦД. Зокрема, як це було встановлено в ендотелії за умов гіперглікемії, ПКС-залежна активація НОК та утворення РФК у цитозолі потенціює зростання мітохондріального утворення РФК, що призводить до ще більшого утворення цитозольних РФК [15].

КПГ-опосередкована активація ПКС за умов ЦД. Підсилення полільного шляху за умов гіперглікемії призводить до окиснення сорбітолу під дією НАД⁺ та зростання цитозольного співвідношення НАДН/НАД⁺ та продукції РФК у мітохондріях [16]. Наслідком цього є пригнічення активності гліколітичного ферменту гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (ГАФДГ) із зростанням концентрації тріозофосфату [16], таким чином спрямовуючи метаболіти від гліколізу до шляхів надмірної

утилізації глюкози [17]. Викликане гіперглікемією мітохондріальне утворення супероксид-аніона призводить до активації ядерного ферменту полі(АДФ-рибозо)полімерази [18] та наступної модифікації та інактивації ГАФДГ полімерами АДФ-рибози [17].

З іншого боку, тріозофосфат, у свою чергу, викликає зростання утворення метилгліоксалу, який є попередником КПП [17]. КПП утворюються шляхом глікації – неферментативного глікозювання білків, ліпідів та нуклеїнових кислот [19], і утворення КПП за умов гіперглікемії зростає [19–21]. Показано, що КПП є одними з важливих медіаторів асоційованих із діабетом судинних дисфункцій [22, 23]. За умов гіперглікемії утворення КПП може зростати як за рахунок позаклітинного, так і внутрішньоклітинного окиснення глюкози до гліоксалу, перетворення аддуктів 1-аміно-1-деоксифруктозолизину на 3-деоксиглюкозон та фрагментації гліцеральдегід-3-фосфату та дегідроксіацетонфосфату на метилгліоксал [24]. Гліоксал, метилгліоксал та 3-деоксиглюкозон реагують із аміногрупами білків, утворюючи КПП [24, 25]. Показано також, що РФК мітохондріального походження відіграють важливу роль у зростанні внутрішньоклітинного рівня реактивних метаболітів глюкози та синтезу КПП [26].

КПП зв'язуються з багатьма поверхневими клітинними рецепторами, включаючи так звані рецептори до КПП (КПП-Р): КПП-рецептор 1 (КПП-Р1, також відомий як OST-48), КПП-Р2 (або субстрат ПКС, 80К-Н), КПП-Р3, галектин-3, рецептор лектин-подібного окисненого ліпопротеїну низької щільності 1 (ЛОК-1), та глікопротеїн ІІІ-β (CD-36) [27, 28]. КПП-Р являють собою трансмембранні імунoglobуліни, локалізовані в ендотеліальних клітинах та судинних гладеньком'язових клітинах (ГМК) [28]. Як це було показано, зв'язування КПП-Р стимулює активацію ендотеліальної НОК [29] та ПКС за умов ЦД [20–22, 30], зокрема ПКС-α [20] та ПКС-δ [6]. Показано, що в ендотеліоцитах за умов ЦД підсилення НОК-залежного утворення РФК є результатом підвищеного сайт-

специфічного Тур-фосфорилування ПКС-δ з боку КПП-Р1 [6]. Встановлено, що рівень КПП-Р1 підвищується за умов оксидативного стресу, асоційованого з ЦД [27].

До того ж, КПП *per se* викликають зростання утворення РФК, і активація КПП-Р підсилює внутрішньоклітинне утворення супероксид-аніона [29]. Показано, що КПП призводять до зростання рівня РФК та експресії судинного ендотеліального фактора росту (СЕФР, також потенційного активатора ПКС за умов діабету, мова про що буде йти нижче) у судинних ГМК та ендотеліальних клітинах [31, 32] через ПКС-залежну активацію НОК [33].

Діацилгліцерол (ДАГ)-опосередкована активація ПКС за умов ЦД. Викликана гіперглікемією інактивація ГАФДГ, що згадувалася вище, також призводить до накопичення продукту гліколізу гліцеральдегід-3-фосфату [17], який може бути перетворений на ДАГ та викликати активацію класичних та нових ізоформ ПКС [17, 34]. Показано, що за умов діабету в судинних тканинах загальний рівень ДАГ підвищується [35–37]. Гіперглікемія може викликати зростання вмісту ДАГ у тканинах судинної стінки, головним чином, через підвищення *de novo* синтезу ДАГ із гліколітичного інтермедіату дигідроацетонфосфату через відновлення останнього до гліцерол-3-фосфату та ступінчасте ацетилювання, яке каталізується гліцерол-3-фосфатацетилтрансферазою та моноацилгліцерол-3-фосфатацетилтрансферазою [34, 36].

З іншого боку, в судинних ГМК діацилгліцеролкіназа (ДАГК) фосфорилує ДАГ, що призводить до утворення фосфатилату та змінює рівень ДАГ [38]. Таким чином, цей фермент функціонує як непрямий регулятор ПКС [36]. Активація ДАГК за умов підвищеної концентрації глюкози підвищує загальний фосфоінозитидний обіг [36]. Nobe та співавтори показали зростання активності ДАГК в ізольованих судинних ГМК діабетичних тварин за умов високої концентрації глюкози, а також кореляцію цих змін із дисфункцією скоротливості ГМК [35, 36]. Зростання

активності кальцій-залежних ДАГК (ізоформи δ та η) у судинних тканинах діабетичних тварин також корелювало зі зростанням рівня ДАГ [35, 36].

Активация ПКС за гіперглікемії може також бути стимульована зростанням активності поліольного шляху [16, 37, 39]. Цей шлях залучає альдозоредуктазу, яка каталізує НАДФН-залежне відновлення глюкози [39]. За умов гіперглікемії спостерігається стимульоване транспортерами глюкози типу 1 (GLUT-1) та 2 (GLUT-2) зростання внутрішньоклітинної концентрації глюкози та її ферментативне перетворення на сорбітол, яке супроводжується зниженням рівня НАДФН [40]. Надалі сорбітол перетворюється на фруктозу за участю сорбітолдегідрогенази із відновленням НАД⁺ до НАДН [40]. Гіперглікемія стимулює експресію альдозоредуктази, а також може впливати на її активацію через РФК-залежне S-тіювання, S-нітрозування та глутатіонування [39, 41]. Як це було показано на культивованих ГМК аорти щурів за умов підвищеної концентрації глюкози, активація ПКС упереджувалася пригніченням альдозоредуктази [37]. Пригнічення альдозоредуктази усувало транслокацію ПКС- β_2 та δ до мембрани, а також знижувало активацію ПКС- β_1 та ϵ , однак не впливало на транслокацію ПКС- α та γ [37]. З іншого боку, на культивованих судинних ГМК велика концентрація глюкози викликала зростання утворення ДАГ через підсилення фосфорилування фосфоліпази C- γ_1 (ФЛС- γ_1) та гідролізу фосфоїнозитиду у результаті оксидативного стресу, викликаного активацією альдозоредуктази [37].

Судинний ендотеліальний фактор росту (СЕФР, також відомий як фактор судинної проникності) є глікопротеїном, що утворюється судинними ГМК та виконує роль цитокіну з ангіогенною та мітогенною дією [42]. СЕФР відіграє велику роль у ретинальній [32, 43] та нирковій [2, 32, 42] недостатності та неоваскуляризації. Родина СЕФР включає декілька членів, таких як СЕФР-А, -В, -С та -D, а також плацентарний фактор росту [44]. Вони діють на різні тирозинкінази, що мають назву

СЕФР-рецептори (СЕФР-Р), такі як СЕФР-Р1 (або fms-подібна тирозинкіназа-1, Flt-1), СЕФР-Р2 (або печінкова кіназа плода-1, Flk-1) та СЕФР-Р3 або Flt-4 [44]. Підвищений рівень СЕФР було встановлено за умов діабетичної ретинопатії [31, 32] та нефропатії [2]. Найважливішою в шляхах сигналізації за участю СЕФР виявляється ПКС- β . Як це було показано на ендотелії сітківки ока, активація ПКС- β_2 може викликати індукцію СЕФР та запускання ангіогенезу [43, 45], а також підвищувати проникність ендотеліоцитів [46, 47] та ГМК [48].

Як це було встановлено на ендотеліальних клітинах аорти за умов ЦД [45] та діабетичної сітківки [49, 50], СЕФР, крім того, що може експресуватися за участю ПКС-залежного механізму, також може активувати ПКС. При цьому СЕФР взаємодіє з рецепторами СЕФР-Р1 та СЕФР-Р2, призводячи до гідролізу фосфоїнозитолу та утворення ДАГ із наступною активацією ПКС- α , ПКС- β [45, 49], ПКС- β_2 [51] та ПКС- δ [49]. СЕФР-Р1 експресується як ендотеліальними клітинами, так і клітинами інших типів, тоді як СЕФР-Р2 характерний лише для ендотеліоцитів, особливо мікросудин сітківки ока [52]. Було показано, що СЕФР-стимульоване утворення ДАГ може бути опосередковане підсиленням фосфорилування тирозину ФЛС- γ [45]. Таким чином, викликана гіперглікемією активація СЕФР та ПКС є взаємозалежними.

Також діабет призводить до зростання рівня ліпідів, що сприяє утворенню як мітохондріальних, так і цитозольних РФК [1]. Рівень циркулюючих вільних жирних кислот за умов ЦД зростає внаслідок їхнього інтенсивного вивільнення із жирової тканини [53] та зниженого поглинання скелетними м'язами [54]. Метаболізм жирних кислот спрямований на підсилення утворення ДАГ, що також призводить до зростання активності ПКС [55]. Показано, що гіперглікемія пов'язана із підвищеним рівнем перекисного окиснення ліпідів, що підсилює активність фосфоліпази С та синтез ДАГ, таким чином, стимулюючи активність ПКС [1, 55].

1. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells / Inoguchi T., Li P., Umeda F. [et al.] // *Diabetes*. – 2000. – V. 49. – P. 1939–1945.
2. Reduction of diabetes-induced oxidative stress, fibrotic cytokine expression, and renal dysfunction in protein kinase C β -null mice / Y. Ohshiro, R. C. Ma, Y. Yasuda [et al.] // *Diabetes* – 2006. – V. 55. – P. 3112–3120.
3. Shao B. Hyperglycaemia promotes cerebral barrier dysfunction through activation of protein kinase C- β . / B. Shao, U. Bayraktutan // *Diabetes Obes. Metab.* – 2013. – V. 15, № 11. – P. 993–999.
4. Phosphorylation of p47^{phox} sites by PKC α , β II, δ , and ζ : effect on binding to p22^{phox} and on NADPH oxidase activation / A. Fontayne, P. M. Dang, M. A. Gougerot-Pocidalo [et al.] // *Biochemistry* – 2002. – V. 41. – P. 7743–7750.
5. Translocation of glomerular p47phox and p67phox by protein kinase C- β activation is required for oxidative stress in diabetic nephropathy / Kitada M., Koya D., Sugimoto T. [et al.] // *Diabetes*. – 2003. – V. 52. – P. 2603–2614.
6. Cai W. AGER1 regulates endothelial cell NADPH oxidase-dependent oxidant stress via PKC- δ : implications for vascular disease / W. Cai, M. Torreggiani, Z. Li // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2010. – V. 298. – P. C624–C634.
7. Peroxide generation by p47phox-Src activation of Nox2 has a key role in protein kinase C-induced arterial smooth muscle contraction / Gupte S. A., Kaminski P. M., George S. [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2009. – V. 296. – P. H1048–H1057.
8. Ding H. Oxidative stress and increased eNOS and NADPH oxidase expression in mouse microvessel endothelial cells / H. Ding, M. Aljofan, C. R. Triggie // *J. Cell. Physiol.* – 2007. – V. 212. – P. 682–689.
9. High glucose causes upregulation of cyclooxygenase-2 and alters prostanoid profile in human endothelial cells: role of protein kinase C and reactive oxygen species / F. Cosentino, M. Eto, P. De Paolis [et al.] // *Circulation* – 2003. – V. 107. – P. 1017–1023.
10. Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus / Hink U., Li H., Mollnau H. [et al.] // *Circ. Res.* – 2001. – V. 88. – P. E14–E22.
11. Puerarin attenuates high-glucose- and diabetes-induced vascular smooth muscle cell proliferation by blocking PKC β 2/Rac1-dependent signaling / Zhu L. H., Wang L., Wang D. [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2010. – V. 48. – P. 471–482.
12. Oxidative stress in cardiovascular diseases and obesity: role of p66Shc and protein kinase C / E. DeMarchi, F. Baldassari, A. Bononi [et al.] // *Oxidat. Med. Cell. Longevity*. – 2013. – V. 2013. – P. 1–11.
13. Gene silencing of the mitochondrial adaptor p66shc suppresses vascular hyperglycemic memory in diabetes / Paneni F., Mocharla P., Akhmedov A. [et al.] // *Circ. Res.* – 2012. – V. 111. – P. 278–289.
14. Genetic deletion of p66(shc) adaptor protein prevents hyperglycemia-induced endothelial dysfunction and oxidative stress / Camici G. G., Schiavoni M., Francia P. [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2007. – V. 104. – P. 5217–5222.
15. C-peptide activates AMPK α and prevents ROS-mediated mitochondrial fission and endothelial apoptosis in diabetes mellitus / Bhatt M. P., Lim Y.-C., Kim Y.-M. [et al.] // *Diabetes*. – 2013. – V. 62, № 11. – P. 3851–3862.
16. Schaffer S. W. Role of oxidative stress in diabetes-mediated vascular dysfunction: Unifying hypothesis of diabetes revisited / S. W. Schaffer, C. J. Jong, M. Mozaffari // *Vasc. Pharmacol.* – 2012. – V. 57, № 5–6. – P. 139–149.
17. Inhibition of GAPDH activity by poly(ADP-ribose) polymerase activates three major pathways of hyperglycemic damage in endothelial cells / Du X., Matsumura T., Edelstein D. [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2003. – V. 112. – P. 1049–1057.
18. Soriano F. G. Diabetic endothelial dysfunction: role of reactive oxygen and nitrogen species production and poly(ADP-ribose) polymerase activation / F. G. Soriano, L. Virag, C. Szabo // *J. Mol. Med.* – 2001. – V. 79. – P. 437–448.
19. Piarulli F. Glyco-oxidation and cardiovascular complications in type 2 diabetes: a clinical update / F. Piarulli, G. Sartore, A. Lapolla // *Acta Diabetol.* – 2013. – V. 50, № 2. – P. 101–110.
20. Inhibition of NADPH oxidase prevents advanced glycation end product-mediated damage in diabetic nephropathy through a protein kinase C- α -dependent pathway / V. Thallas-Bonke, S. R. Thorpe, M. T. Coughlan [et al.] // *Diabetes* – 2008. – V. 57, № 2. – P. 460–469.
21. Ramasamy R. Receptor for AGE (RAGE): signaling mechanisms in the pathogenesis of diabetes and its complications / R. Ramasamy, S. F. Yan, A. M. Schmidt // *Annals New York Acad. Sci.* – 2011. – V. 1243. – P. 88–102.
22. Role of advanced glycation end products with oxidative stress in resistance artery dysfunction in type 2 diabetic mice / Su J., Lucchesi P. A., Gonzalez-Villalobos R. A. [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2008. – V. 28, № 8. – P. 1432–1438.
23. Yamagishi S. I. Role of advanced glycation end products (AGEs) and oxidative stress in vascular complications in diabetes / S. I. Yamagishi // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2012. – V. 1820. – P. 663–671.
24. Hyperglycemia and glycation in diabetic complications / Negre-Salvayre A., Salvayre R., Aude N. [et al.] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2009. – V. 11. – P. 3071–3109.

25. Role of methylglyoxal adducts in the development of vascular complications in diabetes mellitus / Bourajjaj M., Stehouwer C. D., van Hinsbergh V. W. [et al.] // *Biochem. Soc. Trans.* – 2003. – V. 31. – P. 1400–1402.
26. Hyperglycaemia-induced impairment of endothelium dependent vasorelaxation in rat mesenteric arteries is mediated by intracellular methylglyoxal levels in a pathway dependent on oxidative stress / Brouwers O., Niessen P. M., Haenen G. [et al.] // *Diabetologia*. – 2010. – V. 53. – P. 989–1000.
27. RAGE axis: animal models and novel insights into the vascular complications of diabetes / Naka Y., Bucciarelli L. G., Wendt T. [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2004. – V. 24. – P. 1342–1349.
28. RAGE receptor and its soluble isoforms in diabetes mellitus complications / Oliveira M. I. A., de Souza E. M., Pedrosa F. O. [et al.] // *J. Bras. Patol. Med. Lab.* – 2013. – V. 49, № 2. – P. 97–108.
29. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE / Wautier M. P., Chappey O., Corda S. [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 2001. – V. 280. – P. E685–E694.
30. RAGE modulates vascular inflammation and atherosclerosis in a murine model of type 2 diabetes / Wendt T., Harja E., Bucciarelli L. [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2006. – V. 185. – P. 70–77.
31. *Antonetti D. A.* Diabetic retinopathy / Antonetti D. A., Klein R., Gardner T. W. // *New Engl. J. Med.* – 2012. – V. 366. – P. 1227–1239.
32. *Wirotko B.* Vascular endothelial growth factor and diabetic complications / B. Wirotko, T. Y. Wong, R. Simo // *Prog. Retin. Eye Res.* – 2008. – V. 27. – P. 608–621.
33. *Li L.* Activation of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form) oxidase by advanced glycation end products links oxidative stress to altered retinal vascular endothelial growth factor expression / L. Li, G. Renier // *Metabolism*. – 2006. – V. 55. – P. 1516–1523.
34. *Noh H.* The role of protein kinase C activation in diabetic nephropathy / H. Noh, G. L. King // *Kidney Int.* – 2007. – V. 106. – P. 49–53.
35. Dysfunction of aorta involves different patterns of intracellular signaling pathways in diabetic rats / Nobe K., Sakai Y., Nobe H. [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2003. – V. 471. – P. 195–204.
36. Novel diacylglycerol kinase inhibitor selectively suppressed an U46619-induced enhancement of mouse portal vein contraction under high glucose conditions / Nobe K., Miyatake M., Nobe H. [et al.] // *Brit. J. Pharmacol.* – 2004. – V. 143. – P. 166–178.
37. Requirement of aldose reductase for the hyperglycemic activation of protein kinase C and formation of diacylglycerol in vascular smooth muscle cells / Ramana K. V., Friedrich B., Tammali R. [et al.] // *Diabetes*. – 2005. – V. 54. – P. 818–829.
38. *Ohanian J.* Lipid second messenger regulation: the role of diacylglycerol kinases and their relevance to hypertension / J. Ohanian, V. Ohanian // *J. Hum. Hypertens.* – 2001. – V. 15. – P. 93–98.
39. Aldose reductase inhibitor fidarestat prevents retinal oxidative stress and vascular endothelial growth factor overexpression in streptozotocin-diabetic rats / Obrosova I. G., Minchenko A. G., Vasupuram R. [et al.] // *Diabetes*. – 2003. – V. 52. – P. 864–871.
40. *Gaudreault N.* Characterisation of glucose transporters in the intact coronary artery endothelium in rats: GLUT-2 upregulated by long-term hyperglycaemia / N. Gaudreault, D. R. Scriven, E. D. Moore // *Diabetologia*. – 2004. – V. 47. – P. 2081–2092.
41. *Ramasamy R.* Aldose reductase and cardiovascular diseases, creating human-like diabetic complications in an experimental model / R. Ramasamy, I. J. Goldberg // *Circ. Res.* – 2010. – V. 106, № 9. – P. 1449–1458.
42. *Ferrara N.* Vascular endothelial growth factor. The trigger for neovascularization in the eye / N. Ferrara // *Laboratory Invest.* – 1995. – V. 72. – P. 615–618.
43. Characterization of protein kinase C beta isoform's action on retinoblastoma protein phosphorylation, vascular endothelial growth factor-induced endothelial cell proliferation, and retinal neovascularization / Suzuma K., Takahara N., Suzuma I. [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2002. – V. 99. – P. 721–726.
44. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors / Koch S., Tugues S., Li X. [et al.] // *Biochem. J.* – 2011. – V. 437. – P. 169–183.
45. Characterization of vascular endothelial growth factor's effect on the activation of protein kinase C, its isoforms, and endothelial cell growth / P. Xia, L. P. Aiello, H. Ishii [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1996. – V. 98. – P. 2018–2026.
46. Role of protein kinase C on the expression of platelet-derived growth factor and endothelin-1 in the retina of diabetic rats and cultured retinal capillary pericytes / Yokota T., Ma R. C., Park J. Y. [et al.] // *Diabetes*. – 2003. – V. 52. – P. 838–845.
47. Effects on protein kinase C-beta inhibition on glomerular vascular endothelial growth factor expression and endothelial cells in advanced experimental diabetic nephropathy / Kelly D. J., Buck D., Cox A. J. [et al.] // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2007. – V. 293, № 2. – P. F565–F574.
48. Glucose-induced protein kinase C activation regulates vascular permeability factor mRNA expression and peptide production by human vascular smooth muscle cells *in vitro* / Williams B., Gallacher B., Patel H. [et al.] // *Diabetes*. – 1997. – V. 46. – P. 1497–1503.
49. Vascular endothelial growth factor induced retinal permeability is mediated by protein kinase C *in vivo* and suppressed by an orally effective beta-isoform selective inhibitor / L. P. Aiello, S. E. Burzell, A. Clermont [et al.] // *Diabetes*. – 1997. – V. 46. – P. 1473–1480.

50. Blockade of vascular endothelial cell growth factor receptor signalling is sufficient to completely prevent retinal neovascularization / Ozaki H., Seo M. S., Ozaki K. [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2000. – V. 156. – P. 697–707.
51. Protein kinase C β II in diabetic complications: survey of structural, biological and computational studies / M. E. Sobhia, B. K. Grewal, J. Bhat [et al.] // *Expert Opin. Ther. Targets* – 2012. – V. 16, № 3. – P. 325–344.
52. Binding sites for vascular endothelial growth factor are localised on endothelial cells in adult rat tissues / Jakeman L. B., Winer J., Bennett G. L. [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1992. – V. 89. – P. 244–253.
53. *Boden G.* Free fatty acids, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus / G. Boden // *Proc. Assoc. Am. Physicians.* – 1999. – V. 111. – P. 241–248.
54. *Kelley D. E.* Impaired free fatty acid utilization by skeletal muscle in non-insulin-dependent diabetes mellitus / D. E. Kelley, J. A. Simoneau // *J. Clin. Invest.* – 1994. – V. 94. – P. 2349–2356.
55. *McCarty M. F.* A central role for protein kinase C overactivity in diabetic glomerulosclerosis: implications for prevention with antioxidants, fish oil, and AGE inhibitors / M. F. McCarty // *Med. Hypotheses.* – 1998. – V. 50. – P. 155–165.

И. В. Кизуб, К. И. Клименко, А. И. Соловьев

Участие протеинкиназы C в механизмах нарушения сосудистого тонуса при сахарном диабете. Часть 2

В тканях сосудистой стенки в условиях сахарного диабета (СД) протеинкиназа C (ПКС) вызывает активацию НАДФН-оксидазы (НОК), что приводит к усилению образования реактивных форм кислорода (РФК). Путь активации НОК при этом включает $p66^{Shc}$ - и Rac1-опосредованное фосфорилирование субъединиц НОК $p47^{phox}$, $p67^{phox}$ и $gp91^{phox}$. Таким образом, ПКС, будучи активирована РФК, сама является активатором их образования в сосудистой стенке при СД. Гипергликемия также приводит к образованию конечных продуктов гликации (КПГ), которые связываясь со специфическими рецепторами, вызывают активацию ПКС в сосудистой стенке непосредственно или путем активации сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР). С другой стороны, активация ПКС может быть вызвана усилением *de novo* синтеза диацилглицерола (ДАГ), поддержанного активацией диацилглицеролкиназы (ДАГК), или следствием повышения активности фосфолипазы $C-\gamma_1$ (ФЛС- γ_1) в результате активации полиольного пути. Также повышению концентрации ДАГ в сосудистых тканях при диабете может содействовать увеличение синтеза СЭРФ.

Ключевые слова: сахарный диабет, эндотелий, гипергликемия, протеинкиназа C, реактивные формы кислорода, сосудистый тонус, сосудистые гладкие мышцы

I. V. Kizub, K. I. Klymenko, A. I. Soloviev

Protein kinase C participation in mechanisms of vascular tone abnormality in diabetes mellitus. Part 2

Protein kinase C (PKC) is an important NADPH oxidase (Nox) activator in diabetic vascular tissues. It leads to elevation in reactive oxygen species (ROS) formation. This mechanism involves Rac1- and $p66^{Shc}$ -mediated phosphorylation of $p47^{phox}$, $p67^{phox}$ and $gp91^{phox}$ subunits of Nox. PKC has been reported also to be involved in induction of Nox gene expression. Therefore, as well as being activated by ROS, it has been established that PKC itself is an important Nox activator in vascular tissues under diabetes mellitus (DM). Hyperglycemia also leads to accelerated formation of advanced glycation end products (AGEs). AGEs bind to multiple cell surface receptors for AGEs (RAGE) which ligation stimulates endothelial Nox and PKC activation. This activation also can be mediated by increasing vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and its binding to tyrosine-kinases called VEGF receptors (VEGF-R). On the other hand, PKC activation in DM vascular tissues can be elicited by increasing *de novo* diacylglycerol (DAG) synthesis accelerated by diacylglycerol kinase (DAG kinase) or elevated activity of phospholipase $C-\gamma_1$ (PLC- γ_1). The later can be sequence of polyol pathway flux enhancement.

Key words: diabetes mellitus, endothelium, hyperglycemia, protein kinase C, reactive oxygen species, vascular tone, vascular smooth muscle

Надійшла: 28.03.2014 р.

Контактна особа: Кизуб Ігор Володимирович, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, відділ експериментальної терапії, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потье, м. Київ, 03680. Тел.: +38 0 44 456 02 88.
Електронна пошта: buzzmann@ukr.net

Ю. Ю. Петруша, Л. О. Омельянчик

Синтез та біологічна активність похідних 1,2,3,4-тетрагідроакридину

Запорізький національний університет

Ключові слова: похідні
1,2,3,4-тетрагідроакридину,
біологічна активність

Однією з найважливіших проблем фармацевтичної промисловості та біоорганічної хімії є необхідність створення нових безпечних лікарських препаратів. Цей пошук обумовлюється наявністю в існуючих препаратах небажаних побічних ефектів і набуттям резистентності мікроорганізмів до сульфаніламідних препаратів та антибіотиків. Для створення біоактивних молекул застосовуються не лише речовини природного походження, але й нові синтезовані речовини та хімічно модифіковані вже існуючі активні сполуки.

Похідні акридину широко застосовуються як джерела потенційних лікарських препаратів синтетичного походження. Їм присвячено велику кількість робіт вітчизняних та зарубіжних вчених [1–7]. Набагато менше досліджено похідні 1,2,3,4-тетрагідроакридину, які мають особливі хімічні та фізичні властивості, та поєднують у своїй структурі ароматичні та карбоциклічне кільця. Плоска молекула 1,2,3,4-тетрагідроакридину з великою площею створює сприятливі передумови для конструювання лікарських засобів широкого спектра дії.

Відомо, що заміщені тетрагідроакридини проявляють виражені фармакологічні ефекти – антихолінергічні, протипаразитарні. Достатньо вивчені різноманітні похідні 9-аміно-1,2,3,4-тетрагідроакридину [8]. Окреме місце займають 9-меркаптозаміщені 1,2,3,4-тетрагідроакридину, які досліджені значно менше. З огляду на це, вивчення сполук даного ряду видається досить перспективним і актуальним завданням. *Мета дослідження* – аналіз досліджень і публікацій, присвяче-

них пошуку біологічно активних речовин серед похідних 1,2,3,4-тетрагідроакридину.

Синтез та хімічні властивості 1,2,3,4-тетрагідроакридину. 1,2,3,4-тетрагідроакридин – біла речовина, яка плавиться при 55 °С та має основний характер. За властивостями, і навіть, за запахом, він більше нагадує хінолін, ніж акридин, і його можна розглядати як 2,3-тетраметиленхінолін.

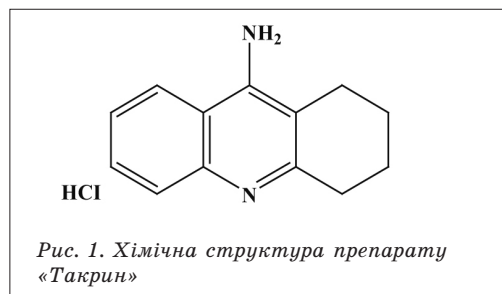
1,2,3,4-тетрагідроакридин утворюється з 65 % виходом при нагріванні аніліну з 2-формілциклогексаноном. Нагрівання суміші ізатину, луку та циклогексанону і наступне декарбоксілювання утвореної тетрагідроакридин-5-карбонової кислоти (температура плавлення 284–286 °С) призводить до утворення тетрагідроакридину з 80 % виходом. Прямий синтез з 2-амінобензальдегіду та циклогексанону не рекомендується. Гідруванням акридину тетрагідроакридин не отримували. Дегідрування тетрагідроакридину проходить важко, але при перегонці його над свинцевим глетом утворюється акридин [9].

Тетрагідроакридин нітрується і сульфується, однак положення замісників у продуктах реакцій не встановлено. Метиленова група в положенні 1 може вступати в конденсацію з альдегідами. Заміщені тетрагідроакридини можна отримати за допомогою вказаних вище загальних методів. 5-хлортетрагідроакридин (температура плавлення 69–70 °С) був отриманий нагріванням тетрагідроакридину з хлорокисом фосфору при 120 °С. На відміну від 5-хлоракридину він лише насилу гідролізується кислотами та не так легко амінується.

5-амінотетрагідроакридин (температура плавлення 179–180 °С), що може бути отриманий при пропусканні амоніаку крізь киплячий розчин хлорпохідного у

кресолі, є речовиною білого кольору з сильними основними властивостями, що утворює білі солі. Тетрагідроакридини, заміщені в гідрованому кільці, можуть проявляти оптичну активність [9].

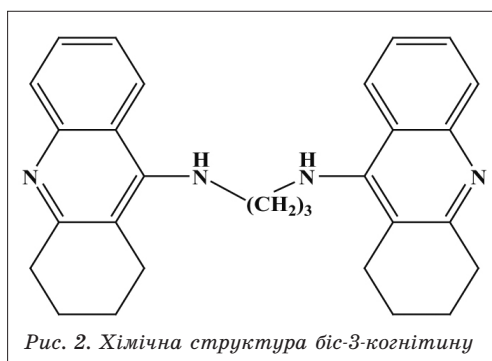
Синтез та фармакологічні властивості похідних 1,2,3,4-тетрагідроакридину. На основі 1,2,3,4-тетрагідроакридину було створено препарати «Такрин» та «Велнакрин», які є засобами, що впливають на периферичні медіаторні процеси. Вони є гідрохлоридом 9-аміно-1,2,3,4-тетрагідроакридину (рис. 1) та 9-аміно-1,2,3,4-тетрагідро-1,1-акридином відповідно [8, 10].



Препарат «Такрин» був першим інгібітором холінергаси, що отримав дозвіл на застосування при хворобі Альцгеймера. Він є центрально діючим неконкурентним зворотним інгібітором ацетилхолінергаси. Хоча цей препарат був синтезований в 1945 році, його здатність інгібувати фермент була виявлена лише в 1953 році. Прийнято вважати, що фармакодинамічний ефект тетрагідроакридинів, у першу чергу, препарату «Такрин», має в своїй основі специфічне зв'язування з ацетилхолінергасою [11].

У стадії вивчення перебуває сполука біс-3-когнітин, що підвищує рівень фактора виживання нейронів, які вражені

хворобою Паркінсона. Біс-3-когнітин (рис. 2) не повинен мати тих побічних ефектів, які є в препараті «Такрин» [12].



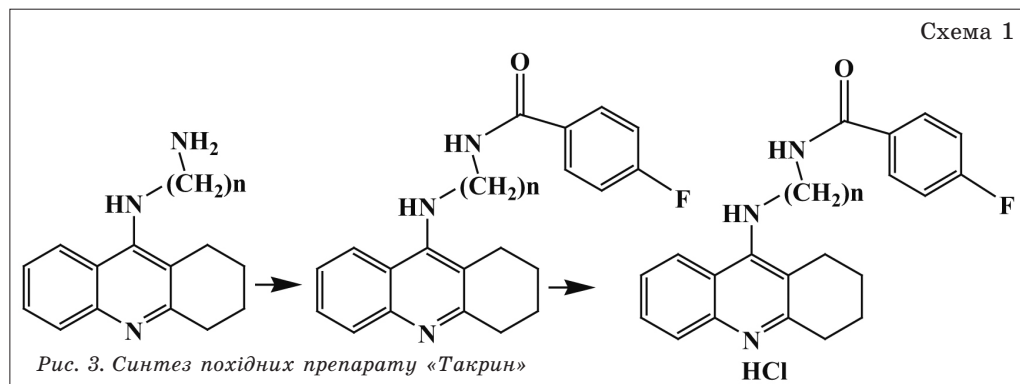
Є роботи з вивчення здатності препарату «Такрин» блокувати Na^+ -канали, що вказує на можливість його застосування як перспективного молекулярного каркасу для створення антиаритмічних засобів [13].

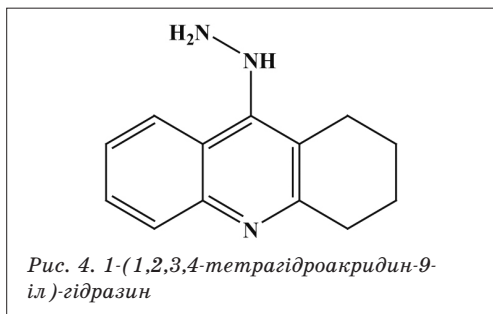
Також є дані літератури щодо синтезу та біологічної активності [14, 15] похідних препарату «Такрин» наступної структури (рис. 3). Встановлено, що вони є більш ефективними інгібіторами ацетилхолінергаси й можуть бути використані для лікування хвороби Альцгеймера.

Розроблено методи синтезу похідних препарату «Такрин», зокрема, сполуки 1-(1,2,3,4-тетрагідроакридин-9-іл)-гідразину (рис. 4), потенційного інгібітора ацетилхолінергаси [16, 17].

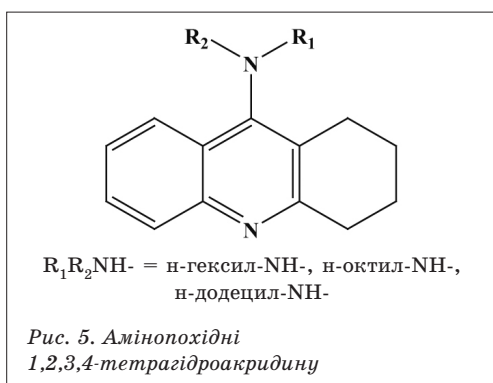
Варто звернути увагу й на відомості щодо протитуберкульозної активності амінопохідних 1,2,3,4-тетрагідроакридину, зокрема, сполук зі структурою, зображеною на рисунку 5 [18].

Треба також відзначити роботи з синтезу на основі 4-(акридин-9-іл)-1-(1,2,3,4-





тетрагідроакридин-9-ілкарбоніл)-тіосемікарбазиду похідних, зокрема, представлених на рисунку 6, які було досліджено на антибактеріальну активність до *Staphylococcus aureus*, *Strep-*



tococcus pyogenes, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas phaseolicola*, а також на фунгіцидну активність до *Fusarium oxysporum* і *Aspergillus fumigatus*.

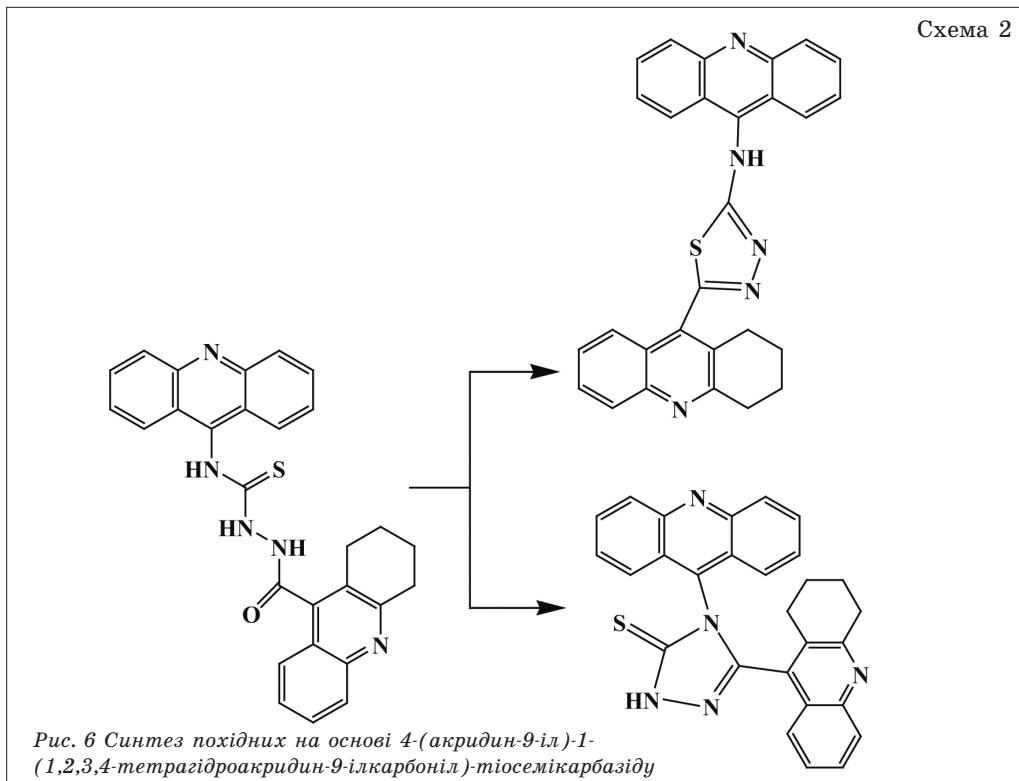
Встановлено, що більшість синтезованих сполук проявляють значну активність відносно досліджуваних мікроорганізмів [19].

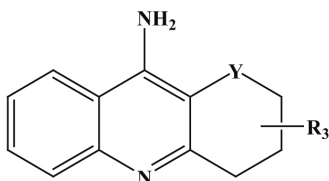
Є дослідження, присвячені синтезу похідних 1,2,3,4-тетрагідроакридину (рис. 7), що можуть використовуватися для запобігання дисфункції пам'яті [20].

Також описується 9-бензиліден-гідразино-1,2,3,4-тетрагідроакридин (рис. 8), який має аналгетичну та антимікробну активність відносно *Staphylococcus aureus*, що дозволяє застосовувати його як аналгетичний та протимікробний лікарський засіб [21].

Інтерес представляє серія похідних 9-фенокси-1,2,3,4-тетрагідроакридину, що мають антитуберкульозну активність проти *M. tuberculosis* (рис. 9) [22].

Є відомості про дослідження антимікробної активності четвертинних солей n-диметиламінобензиліденоксо-тетрагідроакридину та фенілгідразонів четвертинних солей оксотетра-





Y – СНОН або карбоніл; R₃ – гідроксил або група O-CO-Alk

Рис. 7. Похідні 1,2,3,4-тетрагідроакридину

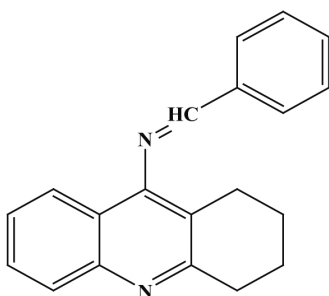


Рис. 8. 9-бензиліденгідразино-1,2,3,4-тетрагідроакридин

гідроакридину [23]. Ці групи містять сполуки, які високоактивні відносно стафілококу. Найбільший відсоток (80–100 %) речовин з високою активністю спостерігали серед четвертинних солей п-диметиламінобензиліденоксотетрагідроакридину.

Відносно *Proteus vulgaris* більшість речовин відзначалась індиферентністю, виняток склали четвертинні солі п-диметиламінобензиліденоксотетрагідроакридину, 60 % яких виявилися активними в концентраціях 31,2–62,4 мкг/мл. Окремі представники роду *Neisseria* виявилися чутливими до четвертинної солі парадиметиламінобензиліденоксотетрагідроакридину. Певний інтерес викликає висока активність похідних парадиметиламінобензиліденоксотетрагідроакридину та фенілгідразону чет-

вертинної солі оксотетрагідроакридину відносно штаму *B. anthracis*.

Варто звернути увагу і на роботи з дослідження антималярійної активності похідних 1,2,3,4-тетрагідроакридину, зокрема, проти *Plasmodium falciparum* та *P. berghei* [24]. Антималярійна активність цього класу сполук відома з 1940 року і активно вивчалася у 1970-х роках XX сторіччя, однак препарати того часу мали погану розчинність та викликали швидку індукцію супротиву паразиту. Тому і сьогодні цей вид фармакологічної дії широко досліджується багатьма вченими [25–27].

Також знайдено відомості про сполуки (рис. 10), які є такими самими ефективними інгібіторами холінестерази, як препарат «Такрин» [28].

Як вказувалось вище, 9-меркаптозаміщені 1,2,3,4-тетрагідроакридину досліджені значно менше. Зокрема, деякими авторами вивчено вплив 9-(4-етоксикарбонілфенокси)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагідроакридину (ЕДТ) (рис. 11) на ішемію мозку [29].

Результати дослідження свідчать, що ЕДТ захищає мозок від ішемії, поліпшує пам'ять і здатність до навчання в піддо-

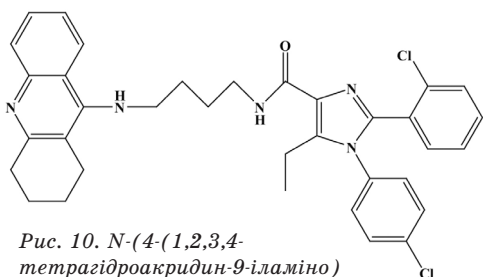


Рис. 10. N-(4-(1,2,3,4-тетрагідроакридин-9-іламіно)бутил)-2-(2-хлорофеніл)-1-(4-хлорофеніл)-5-етил-1H-імідазол-4-карбоксамід

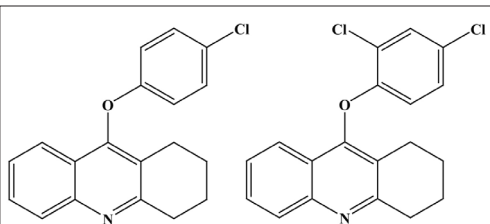


Рис. 9. Похідні 9-фенокси-1,2,3,4-тетрагідроакридину

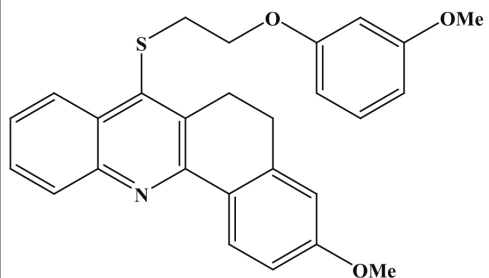
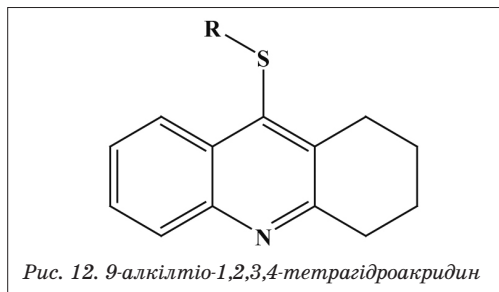


Рис. 11. 9-(4-етоксикарбонілфенокси)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагідроакридин (ЕДТ)



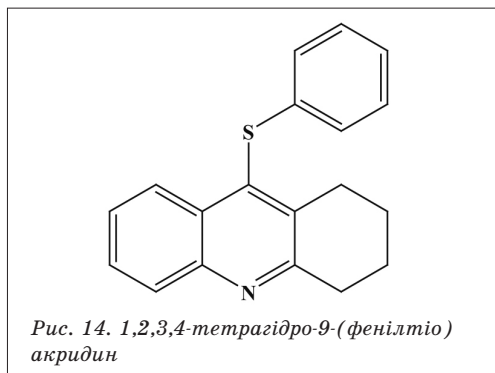
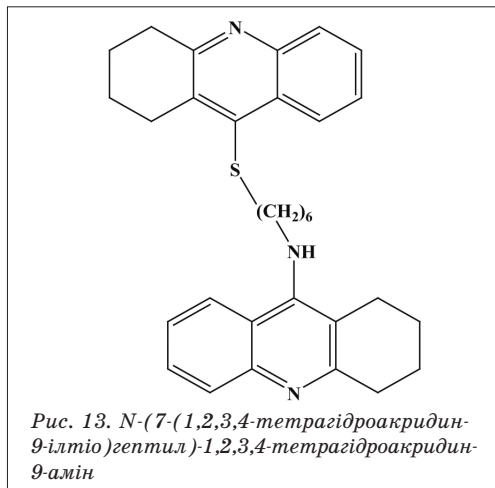
слідних тварин. Ця речовина може бути перспективним засобом для лікування ішемії мозку та покращання пам'яті.

Інтерес представляють синтез і дослідження біологічної активності мономерів і димерів 9-алкілтіо-1,2,3,4-тетрагідроакридину (рис. 12). Встановлено, що мономерні та димерні похідні мають протипаразитарну активність [30].

Крім того, науковцями було синтезовано серію нових похідних тетрагідроакридину, зокрема, сполуку, зображену на рисунку 13 [31].

Слід відзначити роботи з синтезу 9-тіопохідних 1,2,3,4-тетрагідроакридину з протитуберкульозною активністю проти *M. tuberculosis* (рис. 14) [22].

Перспективи застосування похідних 1,2,3,4-тетрагідроакридину. Аналіз даних літератури свідчить, що похідні 1,2,3,4-тетрагідроакридину проявляють ноотропну, антиаритмічну, анагетичну, протиішемічну, протитуберкульозну, протипаразитарну активність і мають широкий спектр антибактеріаль-



ної активності. Наведені наукові дослідження дозволяють зробити висновок, що ці речовини є перспективним класом сполук для подальших досліджень та синтезу на їхній основі нових біологічно активних речовин.

1. Петруша Ю. Ю. Акридин-9-іл-тіоли: досягнення та перспективи подальшого пошуку / Ю. Ю. Петруша, Л. О. Омелянчик // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 5 (18). – С. 3–9.
2. Акридин – основа для конструювання лікарських засобів / О. К. Сухомлинов, Кумар Шаха Дилип, З. Г. Сичова, О. І. Сухомлинова // Фармацевтичний журнал. – 1984. – № 1. – С. 29–34.
3. Структурно-функциональный анализ биологической активности производных акридина / Ф. И. Ершов, В. И. Киселев, О. И. Киселев и др. // Вестник Российской Академии медицинских наук. – 2004. – № 2. – С. 29–34.
4. Шульга І. С. Синтез, будова та біологічна активність похідних бензойної, антранілової кислот і акридину: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. хім. наук : спец. 15.00.07 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія» / Шульга І. С. – Харків, 1996. – 46 с.
5. Левитин Е. Я. Синтез и биологическая активность производных налтогенбензойных кислот и акридинов, созданных на их основе: автореф. дис. на соискание науч. степени докт. фарм. наук : спец. 15.00.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» / Левитин Е. Я. – Харьков, 2004. – 45 с.
6. Ляхова О. А. Синтез і біологічна активність гідразиновмісних похідних акридину, антрацену та флуорену: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. хім. наук : спец. 02.00.10 «Біоорганічна хімія» / Ляхова О. А. – Одеса, 2005. – 22 с.
7. Чаганова Н. Т. Синтез и свойства индолильных и индолинильных производных акридина: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. хим. наук : спец. 02.00.03 «Органическая химия» / Чаганова Н. Т. – Тбилиси, 1991. – 19 с.
8. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. Т. 2. – [14-е изд.]. – М. : ООО «Новая Волна», Издатель С. Б. Дивов, 2001. – 608 с.

9. Эндерфильд Р. Гетероциклические соединения / Р. Эндерфильд. 4 том. – Л. : Химия, 1955. – 539 с.
10. Биологические основы применения фармакотерапии в неврологической практике. Справочное методическое пособие: Под ред. И. Л. Блинкова, Л. В. Хазиной. – М. : Мин-во здравоохран. и соц. развития Рос. Федерации, 2012. – 177 с.
11. Волянський Ю. Л. Перспективи створення протимікробних препаратів на основі похідних акридину та фенантридину / Ю. Л. Волянський, С. Л. Крестецька // Вісник наукових досліджень. – 2002. – № 4. – С. 5–8.
12. Activation of transcription factor MEF 2D by bis(3)-cognitin protects dopaminergic neurons and ameliorates parkinsonian motor defects / L. Yao, W. Li, H. She et al. // J. Biol Chem. – 2012. – № 5. – P. 34246–34255.
13. Wang W. Tetrahydroacridine inhibits voltage-dependent Na⁺ current in guinea-pig ventricular myocytes / W. Wang, Y. Wang, G. Hu // Acta Pharmacol Sin. – 2004. – № 25 (9). – P. 1138–1144.
14. Szymanski P. Synthesis, biological activity and HPLC validation of 1,2,3,4-tetrahydroacridine derivatives as acetylcholinesterase inhibitors / P. Szymanski, A. Karpinski, E. Mikiciuk-Olasik // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2011. – № 46. – P. 3250–3257.
15. Szymański P. Synthesis and biological activity of derivatives of tetrahydroacridine as acetylcholinesterase inhibitors / P. Szymański, M. Markowicz, E. Mikiciuk-Olasik // Bioorganic Chemistry Volume. – 2011. – V. 39, Issue 4. – P. 138–142.
16. Elsinghorst P. W. Novel heterobivalent tacrine derivatives as cholinesterase inhibitors with notable selectivity toward butyrylcholinesterase / P. W. Elsinghorst, C. M. Tanarro, M. Gutschow // Journal of medicinal chemistry. – 2006. – № 49. – P. 7540–7544.
17. Venkateswarlu B. Correlation of 5,6,7,8-tetrahydroacridine based scaffold inhibitory agents for alzheimer disease / B. Venkateswarlu, V. Maniaiah // Int. J. Pharma and Bio Sciences. – 2013. – V. 4 (4). – P. 558–577.
18. Рогоза Л. Н. Противотуберкулезная активность природных и синтетических соединений / Л. Н. Рогоза, Н. Ф. Салахутдинов, Г. А. Толстиков // Химия в интересах устойчивого развития. – 2010. – № 18. – С. 423–455.
19. Ali T. Synthesis and antimicrobial activity of some new 1,3-thiazoles, 1,3,4-thiadiazoles, 1,2,4-triazoles and 1,3-thiazines incorporating acridine and 1,2,3,4-tetrahydroacridine moieties / T. El-Sayed Ali, A. M. El-Kazak // European Journal of Chemistry. – 2010. – № 1. – P. 6–11.
20. Патент России № 2083564, C07D219/10 C07D219/06 C07D219/04 C07D261/20 A61K031/495. Производные тетрагидроакридина, способы их получения (варианты), производные тетрагидроакридинона, производное дигидробензоксазола и фармацевтическая композиция, проявляющая способность облегчения или устранения дисфункции памяти / Г. М. Шатски, К. Д. Каплес, Д. Д. Томер; заявитель и патентообладатель Хехст-Рассел Фармасьютикалз Инкорпорейтед; Заяв. 12.02.1992. Оpub. 10.07.1997.
21. Патент России № 2161606, C07D219/10, A61K31/473, A61P29/00, A61P31/00. 9-бензилиден-гидразино-1,2,3,4-тетрагидроакридин, проявляющий анальгетическую и антимикробную активность в отношении *Staphylococcus aureus* / Л. П. Донцова, М. Е. Коншин, В. Э. Колла, Л. Г. Марданова, Г. Н. Новоселова; заявитель и патентообладатель Пермская государственная фармацевтическая академия; Заяв. 07.04.1999. Оpub. 10.01.2001.
22. Search of antitubercular activities in tetrahydroacridines: synthesis and biological evaluation / R. P. Tripathi, S. S. Verma, J. Pandey et al. // Bioorganic & medicinal chemistry letters. – 2006. – № 16. – P. 5144–5247.
23. Крестецкая С. Л. Противомикробная активность и фармакологические эффекты производных акридина и фенантридина: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук : спец. 03.00.07 «Микробиология» / С. Л. Крестецкая. – Харьков, 2002. – 19 с.
24. 4-(1H)-Quinolones and 1,2,3,4-Tetrahydroacridin-9(10H)-ones prevent the transmission of *Plasmodium falciparum* to *Anopheles freeborni* / F. E. Sáenz, A. N. Lacrue, R. M. Cross et al. // Antimicrob Agents Chemother. – 2013. – V. 57 (12). – P. 6187–6195.
25. Optimization of 1,2,3,4-Tetrahydroacridin-9(10H)-ones as Antimalarials Utilizing Structure–Activity and Structure–Property Relationships / R. M. Cross, J. R. Maignan, T. S. Mutka et al. // J. Med. Chem. – 2011. – V. 54 (13). – P. 4399–4426.
26. Ojha P. K. First report on exploring structural requirements of 1,2,3,4- tetrahydroacridin-9(10H)-one analogs as antimalarials using multiple QSAR approaches: descriptor-based QSAR, CoMFA-CoMSIA 3DQSAR, HQSAR and G-QSAR approaches / P. K. Ojha, K. Roy // Comb. Chem. High Throughput Screen. – 2013. – V. 16 (1). – P. 7–21.
27. Sharma B. K. Topological and physicochemical characteristics of 1,2,3,4-Tetrahydroacridin- 9(10H)-ones and their antimalarial profiles: a composite insight to the structure-activity relation / B. K. Sharma, S. Verma, Y. S. Prabhakar // Curr. Comput. Aided Drug Des. – 2013. – V. 9 (3). – P. 317–325.
28. Патент № 015249, C07D 401/12 A61K 31/473 A61P 25/28 A61P 25/30 A61P 25/24. Соединения с сочетанием антагонистической активности в отношении каннабиноидных рецепторов CB1 и ингибирующей активности в отношении ацетилхолинэстеразы / Х. М. Ланге Йозефус, Г. Крус Корнелис, Б. Шадид; Заявитель и патентовладелец Солвей Фармасьютикалс Б.В.; Заяв. 19.12.2007. Оpub. 30.06.2011.

29. Sheng R. EDT, a tetrahydroacridine derivative inhibits cerebral ischemia and protects rat cortical neurons against glutamate-induced cytotoxicity / R. Sheng, G. Liu // *Acta Pharmacol Sin.* – 2003. – № 24 (5). – P. 390–393.
30. Preparation of new 9-Alkylthio-1,2,3,4-tetrahydroacridine monomers and dimmers / G. Giovannangeli, J. C. Soyfer, J. P. Galy, J. Barbe // *J. of chemical & engineering DATA.* – 1986. – V. 31 (1). – P. 127–129.
31. Tetrahydroacridin-9-ones, 9-chlorotetrahydroacridines, 9-amino-tetrahydroacridines and 9-(pyrazol-1-yl)-tetrahydroacridines derived from chiral cyclanones / A. Frideling, R. Faure, J. P. Galy [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2004. – № 39 (1). – P. 37–48.

Ю. Ю. Петруша, Л. А. Омелянчик

Синтез и биологическая активность производных 1,2,3,4-тетрагидроакридина

Настоящая статья представляет собой обзор по проблеме поиска новых биологически активных веществ. В качестве перспективного класса соединений рассмотрены производные 1,2,3,4-тетрагидроакридина. Описаны их фармакологические свойства. На основе 1,2,3,4-тетрагидроакридина созданы препараты «Такрин» и «Велнакрин», которые влияют на периферические медиаторные процессы и используются для лечения болезни Альцгеймера. Фармакодинамический эффект тетрагидроакридинов имеет в своей основе специфическое связывание с ацетилхолинэстеразой. В стадии изучения находится соединение бис-3-когнитин, которое повышает уровень фактора выживания нейронов, пораженных болезнью Паркинсона, и предположительно не должно иметь побочных эффектов «Такрина». Производные 1,2,3,4-тетрагидроакридина имеют широкий спектр антибактериальной активности к *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas phaseolicola*, фунгицидной – к *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus fumigatus*, противотуберкулезной – против *M. tuberculosis* и антималярийной – против *Plasmodium falciparum* и *P. berghei*. Таким образом, анализ данных литературы показывает, что производные 1,2,3,4-тетрагидроакридина проявляют ноотропную, антиаритмическую, анальгетическую, противоишемическую, противопаразитарную, противотуберкулезную, фунгицидную и антибактериальную активности. Поиск биологически активных веществ в данном ряду соединений является целесообразным, имеет практическую и теоретическую значимость.

Ключевые слова: производные 1,2,3,4-тетрагидроакридина, биологическая активность

Y. Y. Petrusha, L. A. Omelyanchik

Synthesis and biological activity of 1,2,3,4-tetrahydroacridine derivatives

This article provides an overview at the problem of search of new biologically active substances. As a perspective class of compounds are considered 1,2,3,4-tetrahydroacridine derivatives and their pharmacological properties are described. Derivatives of acridine are widely used as a source of potential medicinal preparations of synthetic origin. The plenty works of domestic and foreign scientists are devoted to these substances. Derivatives of 1,2,3,4-tetrahydroacridine which have special chemical and physical characteristics and combine aromatic and carbocyclic rings in the structure are not studied properly. Preparations of «Tacrine» and «Velnacrine» created on the basis of 1,2,3,4-tetrahydroacridine which possess the ability to affect on peripheral mediatory processes are used for Alzheimer's disease treatment. Pharmacodynamic effect of tetrahydroacridine based on specific binding to the acetylcholinesterase. Compound bis-3-kognitin promotes the increased level of neurons survival factor damaged due to Parkinson's disease. Bis-3-kognitin must not have those side effects of "Tacrine". The derivatives of 1,2,3,4-tetrahydroacridine have a wide spectrum of antibacterial activity to *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas phaseolicola*, as well fungicide activity to *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus fumigatus* and antiphthisic action against *M. tuberculosis*. Antimalarial activity of 1,2,3,4-tetrahydroacridine derivatives is also investigated, in particular against *Plasmodium falciparum* and *P. berghei*. 9-mercaptopderivatives of 1,2,3,4-tetrahydroacridine are much less studied. These compounds demonstrate antiparasitic and antiphthisic activity in particularly. Thus, the analysis of data literature testifies that the derivatives of 1,2,3,4-tetrahydroacridine have nootropic, antiarrhythmical, analgetic, antiischemic, antiparasitic, antiphthisic, fungicide and antibacterial activities. The further search of biologically active substances among these compounds appeared to be reasonable and has the practical and theoretical importance.

Key words: 1,2,3,4-tetrahydroacridine derivatives, biological activity

Надійшла: 24.02.2014 р.

Контактна особа: Петруша Юлія Юріївна, кандидат біологічних наук, асистент, кафедра хімії, Запорізький національний університет, буд. 66, вул. Жуковського, м. Запоріжжя, 69600.
Тел. +38 061 222-41-66. Електронна пошта: Yulia.ZNU@mail.ru

Л. Г. Гончар-Чердаклі, К. О. Осадчук, А. П. Ворожбит

Дослідження домінантного міжпівкульного впливу антиконвульсантів на електрофізіологічні показники функціонування мозку*ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ*

Ключові слова: епілепсія, міжпівкульна асиметрія, протисудомні засоби, енцефалографія

Епілепсія – хронічне захворювання нервової системи, одне з найпоширеніших у світовій популяції, на яке страждає близько 60 млн людей [1, 2].

Основним методом лікування даного захворювання й надалі залишається терапія протисудомними засобами. У зв'язку з тим, що останнім часом з'явився широкий вибір протиепілептичних препаратів, виникла необхідність індивідуально підбирати їх для лікування даного захворювання, ґрунтуючись не тільки на типі нападів та епілептичного синдрому, а й враховуючи індивідуальні клініко-інструментальні характеристики епілептичного процесу в конкретного хворого [3, 4]. Зокрема, важливого значення набуває локалізація вогнища епілептогенної активності в правій або лівій півкулях головного мозку. Дане положення зумовлене чітко встановленим фактом існування функціональної, морфологічної та нейрохімічної асиметрії мозку [5, 6], що дає можливість припустити наявність домінантної (переважної) дії нейропсихофармакологічних засобів, оскільки відомо, що механізми дії даних засобів пов'язані, головним чином, з їхнім впливом на різні нейрохімічні ланки синаптичної передачі, розташовані асиметрично в півкулях головного мозку [7]. Особливого значення це твердження набуває у випадку фокальних форм епілепсії, коли чітко визначається локалізація вогнища епілептогенної активності в правій або лівій півкулях головного мозку. За цих умов можливість застосування протисудомних засобів з позиції міжпівкульної асиметрії може стати

одним із суттєвих кроків на шляху до подолання первинної терапевтичної резистентності епілепсії.

Протягом декількох десятиріч років застосування було підтверджено клінічну значимість електроенцефалографічних досліджень для вивчення функцій головного мозку і, у першу чергу, для діагностики форм, типів та локалізації епілептогенної активності [8, 9]. Також реєстрація біоелектричної активності мозку під впливом нейротропних засобів є об'єктивним і чутливим методом оцінки їхньої дії. Разом з тим, роботи, що засвідчують кореляцію між профілем міжпівкульної асиметрії та дією нейропсихофармакологічних засобів, небагаточисленні, а сама проблема потребує ґрунтовного дослідження.

Мета дослідження – визначити вплив протисудомних засобів на показники фонові біоелектричної активності (БА) у симетричних точках кори лівої та правої півкулі мозку.

Матеріали та методи. Досліди проводили на безпородних статевозрілих білих щурах-самцях масою 180–200 г, отриманих з ПП «Біомодельсервіс». Усі експерименти проводили відповідно до «Положення про використання тварин в біомедичних дослідженнях» [10].

Для визначення впливу антиконвульсантів на показники електрокортикограми (ЕКoГ) тваринам дослідних груп ($n = 12$ для кожного досліджуваного препарату, $n = 6$ для вивчення протисудомного впливу в кожній півкулі) та тваринам контрольної групи ($n = 12$, по 6 для оцінки протисудомної активності в кожній півкулі) під комбінованим кетаміновим наркозом (кетамін 2 мг/кг, тіопентал 40 мг/кг, внутрішньоочеревинно (в/о)) стереотаксично за координатами атласу в сенсомоторну кору вживляли біполярні елек-

троди з діаметром кінчика 0,1 мм. У випадку передчасного виходу з наркозу додатково вводили тваринам кетамін у дозі, що складала 1/3 від початкової. З метою зупинки кровотечі при проведенні операції використовували електрокоагулятор. Електроди фіксували до поверхні черепа за допомогою пластичної маси «Евікрол» [11]. Післяопераційний період складав 3–5 днів. Тварин утримували в індивідуальних клітках при вільному доступі до їжі та води.

Оцінку БА мозку проводили за допомогою ЕКоГ, отриманої з використанням електроенцефалографа НЕЙРОКОМ (ХАІ-Медіка, Україна). Реєстрацію ЕКоГ проводили тваринам контрольної та дослідних груп після введення досліджуваних антиконвульсантів у правій та лівій півкулях головного мозку щурів.

У тварин дослідних груп реєстрували показники фонові ЕКоГ (з правої та лівої півкулі головного мозку), потім вводили досліджуваний протисудомний засіб і через 60 хв реєстрували показники ЕКоГ з правої та лівої півкулі головного мозку. При вивченні домінуючого міжпівкульного впливу антиконвульсантів визначали наступні показники БА головного мозку: амплітуду, кількість гіперсинхронних розрядів за 30 с, кількість комплексів пік-хвиля за 30 с [12].

Тваринам дослідних груп в/о вводили антиконвульсанти в ефективних протисудомних дозах: фенobarбітал – 20 мг/кг, карбамазепін – 150 мг/кг, ламотриджин – 30 мг/кг, топірамат – 300 мг/кг, вальпроат натрію – 155 мг/кг у вигляді водної суспензії з додаванням 0,2 % розчину Tween-80.

Отримані результати представлено у вигляді середньоарифметичного (M) і стандартної похибки (m), з урахуван-

ням кількісної вибірки (n). Достовірність відмінностей середніх значень оцінено з використанням t -критерію Стьюдента. Відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$ [13].

Результати та їх обговорення. За умови дії фенobarбіталу в дозі 20 мг/кг через 60 хв після введення біопотенціали підвищення амплітуди біопотенціалів на ЕКоГ лівої та правої півкулі мозку, яке проявлялося появою Δ -хвиль, що свідчить про превалювання гальмівних впливів, зумовлених ГАМК-ергічним потенціюванням. При цьому зростання амплітуди було майже однаковим, зліва (+ 12 %) та справа (+ 16 %) (табл. 1).

Таким чином, фенobarбітал діє однаково на фонову БА лівої та правої півкулі головного мозку білих щурів.

Щодо впливу карбамазепіну, то введення даного препарату в дозі 150 мг/кг не викликало змін амплітуди ЕКоГ лівої півкулі. У той самий час амплітуда біопотенціалів ЕКоГ правої півкулі знижувалася з $171,7 \pm 4,5$ мкВ у контролі до $155,0 \pm 3,1$ у досліді (табл. 2).

Відповідно до показників ЕКоГ карбамазепін знижує амплітуду біопотенціалів кори мозку правої півкулі, що дає підставу для висновку про його переважну дію на праву півкулю.

За дії вальпроату натрію 155 мг/кг амплітуда біопотенціалів на ЕКоГ достовірно знижується лише в лівій півкулі, у правій півкулі мозку спостерігається така сама тенденція (табл. 3).

Вираженість цих змін у лівій півкулі в 2 рази перевищує аналогічні зміни в правій півкулі (табл. 3). Наведені дані свідчать про домінуючу дію вальпроату натрію на ліву півкулю мозку.

Це також підтверджується типовим оригінальним записом ЕКоГ досліді,

Таблиця 1

Показники ЕКоГ лівої та правої півкулі мозку за впливу фенobarбіталу, $M \pm m$, $n = 6$

Умови досліді	Амплітуда біопотенціалів, мкВ	
	Півкулі мозку	
	Ліва	Права
Фонова ЕКоГ	$166,7 \pm 5,9$	$156,7 \pm 7,7$
ЕКоГ за умови дії фенobarбіталу	$186,7 \pm 7,2$	$181,7 \pm 8,1$
Різниця в амплітуді, мкВ	+ 20,0	+ 25,0
Різниця, %	+ 12,0	+ 16,0

**Показники ЕКоГ лівої та правої півкуль мозку
за впливу карбамазепіну, $M \pm m$, $n = 6$**

Умови досліджу	Амплітуда біопотенціалів, мкВ	
	Півкулі мозку	
	Ліва	Права
Фонові ЕКоГ	$151,7 \pm 4,4$	$171,7 \pm 4,5$
ЕКоГ за умови дії карбамазепіну	$150,0 \pm 3,0$	$155,0 \pm 3,1$
Різниця в амплітуді, мкВ	- 1,7	- 16,7
Різниця, %	- 1,1	- 9,7

Таблиця 3

**Показники ЕКоГ лівої та правої півкуль мозку
за впливу вальпроату натрію, $M \pm m$, $n = 6$**

Умови досліджу	Амплітуда біопотенціалів, мкВ	
	Півкулі мозку	
	Ліва	Права
Фонові ЕКоГ	$175,7 \pm 4,5$	$186,2 \pm 2,5$
ЕКоГ за умови дії вальпроату натрію	$150,0 \pm 1,9^*$	$172,8 \pm 1,7$
Різниця в амплітуді, мкВ	- 25,7	- 13,4
Різниця, %	- 14,6	- 7,2

Примітка. Тут і в табл. 4, 5: $*p < 0,05$ відносно фонові ЕКоГ.

представленого на рисунках 1–2, де продемонстровано, що під впливом вальпроату натрію більш виражені зміни ЕКоГ спостерігаються в лівій півкулі.

На відміну від вальпроату натрію, топірамат у дозі 300 мг/кг викликає зниження амплітуди біопотенціалів на ЕКоГ у правій та лівій півкулях, але якщо вальпроат натрію домінантно впливає на біоелектричну активність лівої півкулі (знижує амплітуду біопотенціалів), то топірамат не проявляє вибіркової міжпівкульної дії та достовірно

зменшує амплітуду хвиль як у правій, так і лівій півкулях (табл. 4). Тому за даним показником неможливо визначити домінантну лівоправопівкульну дію цього протисудомного засобу.

За дії ламотриджину амплітуда біопотенціалів на ЕКоГ зростає, але достовірно лише в правій півкулі з $156,7 \pm 3,6$ мкВ у контролі до $176,7 \pm 5,9$ мкВ у досліді ($p < 0,05$) (табл. 5).

Отримані результати свідчать про домінантну дію ламотриджину на праву півкулю мозку.

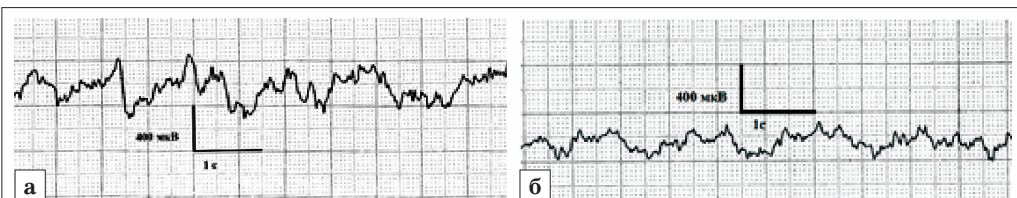


Рис. 1. Фонова ЕКоГ у правій півкулі (а) та вплив вальпроату натрію на показники фонові ЕКоГ (б) у правій півкулі

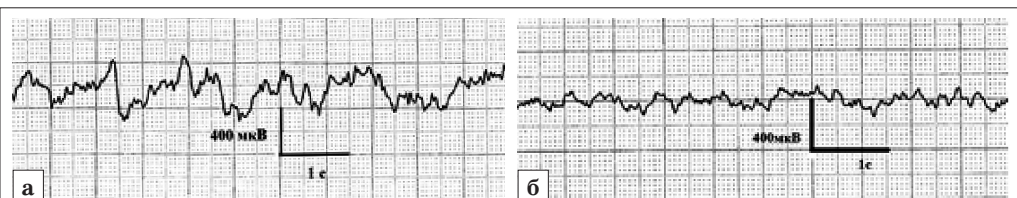


Рис. 2. Фонова ЕКоГ у лівій півкулі (а) та вплив вальпроату натрію на показники фонові ЕКоГ (б) у лівій півкулі

**Показники ЕКоГ лівої та правої півкуль мозку
за впливу топірамату, $M \pm m$, $n = 6$**

Умови досліджу	Амплітуда біопотенціалів, мкВ	
	Півкулі мозку	
	Ліва	Права
Фонові ЕКоГ	145,0 $\pm$ 5,5	141,7 $\pm$ 5,4
ЕКоГ за умови дії топірамату	108,3 $\pm$ 5,4*	108,3 $\pm$ 3,6*
Різниця в амплітуді, мкВ	- 36,7	-33,4
Різниця, %	- 25,3	-23,6

Таблиця 5

**Показники ЕКоГ лівої та правої півкуль мозку
за впливу ламотриджину, $M \pm m$, $n = 6$**

Умови досліджу	Амплітуда біопотенціалів, мкВ	
	Півкулі мозку	
	Ліва	Права
Фонові ЕКоГ	143,3 $\pm$ 3,1	156,7 $\pm$ 3,6
ЕКоГ за умови дії ламотриджину	150,0 $\pm$ 3,8	176,7 $\pm$ 5,9**
Різниця в амплітуді, мкВ	+ 6,7	+ 20,0
Різниця, %	+4,7	+12,8

Примітка. * $p < 0,05$ між показниками ЕКоГ правої та лівої півкуль.

Висновки

Проведені дослідження показали, що фенобарбітал і ламотриджин підвищують, а карбамазепін і топірамат і вальпроат натрію знижують амплітуду біопотенціалів на ЕКоГ мозку білих щурів. Встановлено переважну дію карбамазепіну та ламотриджину на праву півкулю, а вальпроату натрію на ліву півкулю. Фенобарбітал і топірамат проявляють

однакову (амбівалентну) дію на ліву й праву півкулі головного мозку.

Отримані дані можуть бути передумовою для подальшого вивчення домінуючого протисудомного впливу антиконвульсантів та їхнього диференційованого застосування при локалізації вогнища в лівій або правій півкулях головного мозку для лікування фокальних форм епілепсії.

1. Карлов В. А. Детская эпилепсия как инструмент познания развивающегося мозга / В. А. Карлов // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2002. – № 5. – С. 4–5.
2. Wolf P. Historical aspects of idiopathic generalized epilepsies / P. Wolf // Epilepsia. – 2005. – V. 46, № 9. – P. 7–9.
3. The new antiepileptic drugs: a systematic review of their efficacy and tolerability / A. G. Marson, Z. A. Kadir, J. L. Hutton, D. W. Chadwick // Epilepsia. – 1997. – № 38. – P. 859–880.
4. Asconape J. J. Some common issues in the use of antiepileptic drugs / J. J. Asconape // Semin. Neurol. – 2002. – V. 22, № 1. – С. 27–39.
5. Serotonergic interhemispheric asymmetry: neurochemical and pharmacologic evidence // M. Arato, E. Frecka, D. J. MacCrimmon [et al.] // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. – 1991. – № 15. – P. 759–764.
6. Боголепова Н. Н. Функциональная межполушарная асимметрия / Н. Н. Боголепова. – М. : Научный мир, 2004. – 728 с.
7. Hypothermia during kainic acid-induced seizures reduces hippocampal lesions and cerebral nitric oxide production in immature rabbits / Y. Takei, Y. Nishikawa, M. Tachibana [et al.] // BrainDev. – 2004. – V. 26, № 3. – P. 176–183.
8. Luders H. Epileptic Seizures: pathophysiology and clinical semiology (1st ed.) / H. Luders, S. Noachtar. – [1st ed.]. – USA: ChurchillLivingstone, 2000. – 796 p.
9. Дзяк Л. А. Эпилепсия / Л. А. Дзяк, Л. Р. Зенков, А. Г. Кириченко. – К. : Книга-плюс, 2001. – 168 с.
10. European convention for the protection of vertebrate animal used for experimental and other scientific purposes // Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – 53 p.
11. Крыжановский Г. Н. Киндлинг как модель формирования эпилептической активности / Г. Н. Крыжановский, А. А. Шандра, Л. С. Годлевский // Успехи физиол. наук. – 1988. – Т. 19, № 4. – С. 12–32.
12. Синицкий В. Н. Судорожная готовность и механизмы эпилептических припадков (клинико-экспериментальное исследование) / В. Н. Синицкий. – К. : Наукова думка, 1976. – 215 с.
13. Сергиенко В. И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева. – М. : «Геотар медицина», 2001. – 304 с.

Л. Г. Гончар-Чердаклі, К. О. Осадчук, А. П. Ворожбит

Дослідження домінантного міжпівкульного впливу антиконвульсантів на електрофізіологічні показники функціонування мозку

Метою даного дослідження було визначення домінантного міжпівкульного впливу протисудомних засобів на показники фоновой біоелектричної активності мозку.

Досліди проводили на беспородних статевозрілих білих щурах-самцях. Вплив протисудомних засобів на показники фоновой біоелектричної активності визначали в симетричних точках кори лівої та правої півкулі мозку. Оцінку біоелектричної активності проводили за допомогою ЕКоГ, отриманої з використанням електроенцефалографа НЕЙРОКОМ (ХАІ-Медіка, Україна) з реєстрацією наступних показників: амплітуди, кількості гіперсинхронних розрядів за 30 с, кількості комплексів пік-хвиля за 30 с. Тваринам дослідних груп в/о вводили антиконвульсанти в ефективних протисудомних дозах: фенобарбітал – 20 мг/кг, карбамазепін – 150 мг/кг, ламотриджин – 30 мг/кг, топірамат – 300 мг/кг, вальпроат натрію – 155 мг/кг.

Проведені дослідження показали, що фенобарбітал і ламотриджин підвищують, а карбамазепін, топірамат і вальпроат натрію знижують амплітуду біопотенціалів на ЕКоГ мозку білих щурів. При цьому встановлено переважну дію карбамазепіну та ламотриджину на праву півкулю, а вальпроату натрію на ліву півкулю. Фенобарбітал і топірамат проявляють однакову (амбівалентну) дію на ліву та праву півкулі головного мозку.

Ключові слова: епілепсія, міжпівкульна асиметрія, протисудомні засоби, енцефалографія

Л. Г. Гончар-Чердакли, К. О. Осадчук, А. П. Ворожбыт

Исследования доминантного межполушарного влияния антиконвульсантов на электрофизиологические показатели функционирования мозга

Целью данного исследования было определение доминантного межполушарного влияния противосудорожных средств на показатели фоновой биоэлектрической активности мозга.

Опыты проводили на беспородных половозрелых белых крысах-самцах. Влияние противосудорожных средств на показатели фоновой биоэлектрической активности определяли в симметричных точках коры левого и правого полушарий мозга. Оценку биоэлектрической активности проводили с помощью ЭКоГ, полученной с использованием электроэнцефалографа НЕЙРОКОМ (ХАИ-Медика, Украина) с регистрацией следующих показателей: амплитуды, количества гиперсинхронных разрядов за 30 с, количества комплексов пик-волна за 30 с. Животным опытных групп внутривенно вводили антиконвульсанти в эффективных противосудорожных дозах: фенобарбитал – 20 мг/кг, карбамазепин – 150 мг/кг, ламотриджин – 30 мг/кг, топирамат – 300 мг/кг, вальпроат натрия – 155 мг/кг.

Проведенные опыты показали, что фенобарбитал и ламотриджин повышают, а карбамазепин, топирамат и вальпроат натрия снижают амплитуду биопотенциалов на ЭКоГ мозга белых крыс. При этом установлено преимущественное действие карбамазепина и ламотриджина на правое полушарие, а вальпроата натрия на левое полушарие головного мозга крыс. Фенобарбитал и топирамат оказывают одинаковое (амбивалентное) действие на левое и правое полушария головного мозга.

Ключевые слова: эпилепсия, межполушарная асимметрия, противосудорожные средства, энцефалография

L. Gonchar- Cherdakli, K. Osadchuk, A. Vorozhbyt

Studies of hemispheric dominant influence of anticonvulsants on the electrophysiological parameters action of brain functioning

The main goal of this study was determination of dominant interhemispheric influences of anticonvulsant drugs on the background bioelectric activity of the brain.

Experiments were performed on mature white mongrel male rats. Effects of anticonvulsant drugs on the background bioelectrical activity was determined in the symmetric points of the cortex of the left and right hemispheres of the brain. Evaluation of bioelectrical activity was performed using EKoG (electroencephalograph NEYROKOM (HAYI-Medica, Ukraine) with registration the following parameters: amplitude, the number of bits for 30 s, the number of peak-wave complexes for 30 s. The animals were treated with anticonvulsants administered in effective antiseizures doses: phenobarbital – 20 mg/kg, carbamazepine – 150 mg/kg, lamotrigine – 30 mg/kg, topiramate – 300 mg/kg, valproate sodium – 155 mg/kg.

The data obtained have shown that phenobarbital and lamotrigine increased while carbamazepine topiramate and sodium valproate reduced the amplitude of bioelectric potentials in brain EKoG. It is important to note that the effects of carbamazepine and lamotrigine were exhibited mainly in the right hemisphere, and sodium valproate in the left hemisphere. Phenobarbital and topiramate showed ambivalent effects on the left and right hemispheres of the brain in the same manner.

Key words: epilepsy, interhemispheric asymmetry, anticonvulsants, encephalography

Надійшла: 14.02.2014 р.

Контактна особа: Гончар-Чердаклі Лідія Григорівна, молодший науковий співробітник, відділ нейрофармакології, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потье, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 92 27.

В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, Б. А. Загинайченко

Дослідження психотропних властивостей потенційних рослинних антиконвульсантів

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: лікарські рослини, екстракти, протисудомні засоби, психотропні властивості

Соціальна значущість проблеми захворюваності на епілепсію визначається її широкою розповсюдженістю, а також можливістю розвитку змін особистості та психіки у понад третини пацієнтів [4]. Хворим на епілепсію притаманні специфічні зміни характеру у вигляді дисфорій: туга може поєднуватись із тривогою, відчаєм, безвихіддю, страхом. У випадку несприятливого перебігу захворювання формується епілептичне слабоумство, одним із проявів якого є погіршення пам'яті [2, 8]. Отже, актуальною є розробка нових протисудомних засобів, здатних нівелювати або суттєво зменшувати симптоми епілептичних змін особистості [3].

На шляху пошуку нових лікарських засобів, здатних одночасно впливати на різні ланки патогенезу захворювань ЦНС (зокрема епілепсії), привертають увагу фітопрепарати. Ця властивість забезпечується, перш за все, їхнім полікомпонентним складом [1]. До того ж фітопрепарати звичайно мають високий ступінь безпечності навіть при тривалому застосуванні.

У попередньому дослідженні ми встановили виразні протисудомні властивості сухих екстрактів рутки Шлейхера (*Fumaria schleicheri* Soy.-Willem., *Fumariaceae*) та базилику камфорного (*Ocimum basilicum* L., *Lamiaceae*) [6]. Виходячи з цього, доцільне подальше поглиблене вивчення фармакодинаміки зазначених фітопрепаратів, у тому числі супутніх психотропних властивостей.

Мета дослідження – визначити вплив сухих екстрактів рутки Шлейхера (СЕРШ) та базилику камфорного (СЕБК) на поведінкові реакції, тривожність, депресивність і пам'ять тварин, а також із урахуванням міорелаксантних власти-

востей багатьох відомих антиконвульсантів з'ясувати вплив СЕРШ та СЕБК на м'язовий тонус та координацію рухів.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 164 білих рандомбредних мишах обох статей масою 20–27 г. Тварин утримували в стандартних умовах віварію ЦНДЛ НФаУ з вільним доступом до води та їжі [7]. Сухі екстракти вводили внутрішньошлунково протягом 2–3 діб у вигляді відповідних водних розчинів в умовно ефективній протисудомній дозі 100 мг/кг [6], востаннє за 30 хв до проведення тесту. Контрольні тварини отримували внутрішньошлунково воду очищену в аналогічному об'ємі (0,1 мл на 10 г маси тіла).

Вплив сухих екстрактів на локомоторну активність, орієнтовно-дослідницьку діяльність та емоційну сферу вивчали за допомогою стандартного тесту відкритого поля [5]. Після перебування в затемненій клітці протягом 5–6 хв мишу розміщували в центрі платформи та починали відлік часу. За 3 хв перебування в «полі» оцінювали локомоторну активність тварини за кількістю пересічених квадратів, орієнтовно-дослідницьку діяльність за кількістю вертикальних стійок та обстежених отворів, а також емоційний стан та його вегетативний супровід за кількістю фекальних болюсів, уринацій та актів ґрумінгу.

Для вивчення впливу фітопрепаратів на тривожність використовували тест піднесеного хрестоподібного лабіринту [5]. Тест базується на природному страху висоти та униканні гризунами освітлених просторів. Враховуючи суттєвий вплив зовнішніх факторів та значну тривалість у часі поведінкових методик, для груп, що отримували сухі екстракти, а також групи, тваринам якої вводили препарат порівняння діазепам, використовували власний контроль. Тестовий період тривав 5 хв. Оцінку ансіолітичної дії проводили за такими показниками: латентний

період входу до темної камери, час знаходження на освітлених ділянках, час перебування в темних рукавах, відвідування центральної площадки, освітлених та темних рукавів, а також прояви вегетативного супроводу емоційних реакцій (болюси, уринації, сума).

Оцінку впливу фітопрепаратів на депресивну поведінку проводили в умовах іммобілізаційного тесту підвищення мишей за хвіст [9]. Як маркер депресивності використовували сумарний час нерухомого зависання тварини протягом 6 хв спостереження.

Вплив досліджуваних екстрактів на пам'ять вивчали на інтактних тваринах та за умов експериментальної антероградної амнезії з використанням тесту умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) [5]. На другий день введення препаратів тварин розміщували на освітленій платформі приладу та реєстрували латентний період безумовного рефлексу – входу до темної камери, де мишей піддавали впливу електричного струму. Через 24 год вдруге визначали латентний період входу до темної камери. Мишей, які не відвідували її протягом 3 хв (латентний період 180 с), вважали такими, що досягли критерію навченості.

Антиамнестичні властивості обраних сухих екстрактів також вивчали в умовах тесту УРПУ на моделі антероградної амнезії, викликаній введенням М-холіноблокатора скополаміну (1,5 мг/кг внутрішньоочеревинно) [5] через 30 хв після останнього введення досліджуваних екстрактів та препарату порівняння. Інтактних мишей навчали УРПУ без амнезувального впливу. Тварин розміщували на освітленій платформі приладу та реєстрували латентний період безумовного рефлексу – входу до темної камери, де мишей піддавали впливу електричного струму. Через 24 год вдруге визначали латентний період входу до темної камери. Мишей, які не відвідували її протягом 3 хв (латентний період 180 с), вважали такими, що досягли критерію навченості. Антиамнестичну активність сполук оцінювали за модифікованою формулою Butler:

$$AA = \frac{ЛПД-ЛПск}{ЛПік-ЛПск} \cdot 100 \%,$$

де АА – антиамнестична активність, ЛПск і ЛПд – середній латентний період у тварин, яким вводили відповідно тільки скополамін і скополамін на тлі досліджуваної сполуки, ЛПік – латентний період інтактного контролю.

Вплив досліджуваних екстрактів на м'язовий тонус та координацію рухів досліджували за допомогою тесту стрижня, що обертається [5]. Критерієм оцінки впливу екстрактів, а також препарату порівняння на м'язовий тонус та координацію рухів обрано кількість мишей, що за певні проміжки часу впали зі стандартного стрижня, який обертався з постійною швидкістю 10 обертів за хвилину.

Як референс-препарат при вивченні анксиолітичної активності та впливу на м'язовий тонус та координацію рухів використовували діазепам («Реланіум», Полфа, Польща), 10 мг/кг – анксиолітичний препарат із антиконвульсивною та міорелаксантною дією; при дослідженні антиамнестичної дії – рослинний ноотроп: стандартизований екстракт листя гірко дволопатевого («Білобіл», KRKA, Словенія), 100 мг/кг. Усі препарати вводили у шлунок у тому самому режимі, що й СЕРІІ та СЕБК.

Для оцінки статистичної значущості міжгрупових відмінностей отриманих результатів використовували параметричний t-критерій Ст'юдента у випадку нормального розподілу та непараметричний U-критерій Манна-Уїтні за його відсутності, а також кутове перетворення Фішера (при обліку даних в альтернативній формі).

Результати та їх обговорення. Результати тесту відкритого поля наведено в таблиці 1. Отримані дані свідчать про відсутність достовірного впливу досліджуваних сухих екстрактів на локомоторну та орієнтовно-дослідницьку активність, а також емоціональний стан піддослідних тварин. Проте СЕБК невірогідно збільшував кількість перетнутих квадратів у 1,44 разу, а також число вертикальних стійок та обстежених отворів у 1,65 та 1,37 разу відповідно. Крім того, на фоні прийому СЕБК спостерігали зменшення сумарного показника емоційних реакцій у 1,46 разу. Однак в об'ємі даної вибірки ці відмінності не є статистично значу-

Показники поведінки мишей у тесті відкритого поля за впливу досліджуваних екстрактів, $M \pm t$

Показник (за 3 хв)	Контроль (n = 7)	СЕРШ, 100 мг/кг (n = 7)	СЕБК, 100 мг/кг (n = 6)
Локомоторна активність (перетнуто квадратів)	30,43 ± 4,37	34,43 ± 6,94	43,83 ± 5,58
Орієнтовно-дослідницька активність:			
– стійки	6,57 ± 1,21	5,71 ± 2,01	10,83 ± 1,96
– отвори	26,57 ± 4,55	30,86 ± 4,39	36,33 ± 2,08
– сума	33,14 ± 5,54	35,14 ± 4,58	47,17 ± 3,92
Емоційні реакції:			
– болюси	1,86 ± 0,74	2,71 ± 0,94	1,50 ± 0,67
– уринації	0	0,14 ± 0,14	0
– грумінг	0,57 ± 0,30	0,86 ± 0,26	0,33 ± 0,21
– сума	2,43 ± 0,97	3,71 ± 0,87	1,83 ± 0,79

щими, що дозволяє говорити лише про тенденційний стимулювальний вплив зазначеного сухого екстракту на локомоторну активність та орієнтовно-дослідницьку діяльність, а також легкий пригнічувальний вплив на емоційну сферу експериментальних тварин.

Обидва досліджувані екстракти не мають антидепресивних та депресогенних властивостей, що підтверджується даними тесту поведінкового відчаю тварин (табл. 2).

Аналіз даних таблиці 3 свідчить, що сухому екстракту рутки Шлейхера притаманна значна анксиолітична дія. За виразністю транквілізуючого ефекту СЕРШ у дозі 100 мг/кг практично не поступався препарату порівняння діазепаму в дозі 10 мг/кг. Останній за умов досліду спричиняв достовірне подовження латентного періоду входу до темної камери, часу знаходження в освітлених рукавах, кількості відвідувань освітлених та темних рукавів, зменшував тривалість перебування тварин у темних рукавах

лабіринту, а також знижував суму показників вегетативного супроводу емоційних реакцій. На тлі застосування СЕРШ у дозі 100 мг/кг спостерігали подібні зміни: подовження часу знаходження тварин в освітлених рукавах, збільшення кількості відвідувань освітлених і темних рукавів лабіринту та центральної площадки, зменшення тривалості перебування мишей у темних рукавах, а також тенденцію до подовження латентного періоду входу до темної камери без суттєвого впливу на вегетативний супровід емоційних реакцій. Під впливом СЕБК спостерігали лише невірідну тенденцію до подовження латентного періоду входу до темної камери, збільшення часу знаходження в освітлених рукавах, кількості відвідувань освітлених та темних відсіків, центральної ділянки, а також статистично недостовірне зменшення часу перебування тварин у темних рукавах лабіринту.

Результати дослідження впливу сухих екстрактів та діазепаму на м'язовий тонус та координацію рухів у тесті стрижня, що обертається, наведено в таблиці 4. Отримані дані свідчать про відсутність у СЕРШ та СЕБК негативно-го впливу на тонус скелетних м'язів та координацію рухів. Навпаки, СЕРШ достовірно зменшував відсоток мишей, що впали зі стрижня до 1 хв відносно групи контролю. Діазепам спричинив типовий міорелаксантийний ефект, а саме

Таблиця 2

Показник депресивної поведінки мишей в іммобілізаційному тесті за впливу досліджуваних екстрактів, $M \pm t$

Група, кількість тварин	Тривалість нерухомого зависання, с
Контроль (n = 6)	116,17 ± 20,53
СЕРШ, 100 мг/кг (n = 6)	138,67 ± 21,08
СЕБК, 100 мг/кг (n = 6)	139,00 ± 17,27

Таблиця 3

Показники поведінки мишей у тесті піднесеного хрестоподібного лабіринту за впливу досліджуваних сухих екстрактів та діазепаму, $M \pm t$

Показник (за 5 хв)	Діазепам, 10 мг/кг		Досліджувані сухі екстракти, 100 мг/кг		
	Контроль (n = 13)	Дослід (n = 13)	Контроль (n = 7)	СЕРШ (n = 7)	СЕБК
Латентний період входу до темної камери, с	5,8 ± 2,5	27,5 ± 10,1**	3,3 ± 1,1	22,1 ± 16,8	9,3 ± 7,3
Час знаходження в освітлених рукавах, с	82,9 ± 24,0	215,0 ± 34,0**	9,1 ± 2,1	114,4 ± 20,6**	49,0 ± 26,1
Час знаходження в темних рукавах, с	216,0 ± 23,0	86,9 ± 33,8**	291,1 ± 2,0	185,6 ± 20,6**	251,0 ± 26,1
Кількість відвідувань освітлених рукавів	2,4 ± 0,8	4,4 ± 0,7*	0,1 ± 0,1	5,0 ± 0,6**	1,8 ± 0,9
Кількість відвідувань темних рукавів	1,8 ± 0,6	4,1 ± 0,8*	2,3 ± 0,6	9,9 ± 1,7**	6,3 ± 2,3
Кількість відвідувань центральної площадки	3,7 ± 1,4	7,1 ± 1,3	1,3 ± 0,6	4,1 ± 1,2*	3,5 ± 1,6
Вегетативний супровід емоційних реакцій:					
– болюси	1,4 ± 0,4	0,2 ± 0,1	1,7 ± 0,8	3,4 ± 0,7	2,3 ± 0,6
– уринації	0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,2
– сума	1,4 ± 0,4	0,3 ± 0,1*	1,84 ± 0,90	3,6 ± 0,8	2,5 ± 0,4

Примітка. *Достовірні відмінності з показником контролю ($p < 0,05$); **достовірні відмінності з показником контролю ($p < 0,01$).

достовірно збільшувалася кількість мишей, що впали зі стрижня до 30 с та до 5 хв. За відсутності негативного впливу на м'язовий тонус та координацію рухів СЕРШ та СЕБК вірогідно перевершували діазепам (табл. 4).

Результати дослідження впливу екстрактів на пам'ять інтактних тварин у тесті УРПУ наведено в таблиці 5. Отримані дані свідчать про відсутність впливу СЕРШ та СЕБК у дозі 100 мг/кг на пам'ять здорових мишей за умови профілактичного введення препаратів.

На фоні скополамінової амнезії достовірно зменшувалися латентний

період входу мишей до темної камери та кількість тварин, що досягли критерію навченості, відносно інтактного контролю (табл. 6). СЕБК у досліджуваній дозі не впливав на зазначені показники – вони знаходились на рівні групи контролю амнезії. СЕРШ майже в 1,6 разу збільшував латентний період входу до темної камери, проте за рахунок високої дисперсії показник не досягав статистичної значущості. Однак на фоні прийому СЕРШ достовірно зростала кількість тварин, що досягли критерію навченості. Препарат порівняння Білобіл спричиняв подовження латент-

Таблиця 4

Показники м'язового тонусу та координації рухів у тесті стрижня, що обертається, за впливу досліджуваних сухих екстрактів та діазепаму

Група	Впали до 30 с	Впали до 1 хв	Впали до 5 хв
Контроль (n = 7)	1/14,3 %	4/57,1 %	4/57,1 %
СЕРШ, 100 мг/кг (n = 7)	0/0 % ##	0/0 % ****	4/57,1 % ##
СЕБК, 100 мг/кг (n = 6)	1/16,7 % #	1/16,7 % #	4/66,7 % *
Діазепам, 10 мг/кг (n = 7)	5/71,4 % **	5/71,4 %	7/100 % **

Примітка. У числелінику абсолютна кількість тварин, у знаменнику – %. *Достовірні відмінності з показником контролю ($p < 0,05$); **достовірні відмінності з показником контролю ($p < 0,01$); #достовірні відмінності з показником групи діазепаму ($p < 0,05$); ##достовірні відмінності з показником групи діазепаму ($p < 0,01$).

**Показники поведінки інтактних мишей у тесті УРПУ
за впливу досліджуваних сухих екстрактів, $M \pm t$**

№	Група	Латентний період входу до темної камери, с		Кількість мишей, що досягли критерію навченості	
		вихідний	через 24 год	абсолютна	%
1	Контроль (n = 7)	8,29 ± 1,86	150,50 ± 29,50 [^]	6	85,71
2	СЕРШ, 100 мг/кг (n = 6)	10,83 ± 2,61	156,17 ± 23,83 [^]	5	83,33
3	СЕБК, 100 мг/кг (n = 6)	20,17 ± 6,27	180,00 ± 0 [^]	6	100

Примітка. [^]Достовірні відмінності з показником вихідного стану ($p < 0,05$).

Таблиця 6

**Показники поведінки мишей з антероградною амнезією в тесті УРПУ
за впливу досліджуваних сухих екстрактів та білобілу, $M \pm t$**

№	Група	Латентний період входу до темної камери, с		АА, %	Кількість мишей, що досягли критерію навченості	
		вихідний	через 24 год		Абс.	%
1	Інтактний контроль (n = 7)	16,57 ± 3,60	144,29 ± 20,22 [^]	–	4	57,14
2	Контроль амнезії (скопо-ламін, 1,5 мг/кг) (n = 7)	29,86 ± 3,36	89,29 ± 18,79 ^{#^}	–	1	14,29 [#]
3	СЕРШ, 100 мг/кг + скопо-ламін, 1,5 мг/кг (n = 7)	36,43 ± 4,63	138,71 ± 23,90 [^]	89,85	4	57,14 [*]
4	СЕБК, 100 мг/кг + скополамін, 1,5 мг/кг (n = 7)	25,00 ± 4,05	99,00 ± 28,36 [^]	1,29	2	28,57
5	Білобіл, 100 мг/кг + скополамін, 1,5 мг/кг (n = 6)	64,67 ± 14,95	153,17 ± 24,89 [^]	116,15	4	66,67 [*]

Примітка. [^]Достовірні відмінності з показником вихідного стану ($p < 0,05$); [#]достовірні відмінності з показником інтактного контролю ($p < 0,05$); ^{*}достовірні відмінності з показником контролю амнезії ($p < 0,05$). АА – антиамнестична активність, %.

ного періоду входу до темної камери в 1,7 разу ($p > 0,05$) та збільшення відсотка мишей, що досягли критерію навченості ($p < 0,05$).

Отже, за сукупністю отриманих даних СЕРШ у дозі 100 мг/кг виявляє виразні анксиолітичні та помірні антиамнестичні властивості, не чинить негативного впливу на локомоторну, орієнтовно-дослідницьку активність, емоційні реакції, депресивну поведінку, м'язовий тонус та координацію рухів піддослідних тварин. СЕБК у дозі 100 мг/кг викликає тенденцію до підвищення локомоторної активності, а також орієнтовно-дослідницької діяльності. Він не впливає на емоційну сферу, депресивність, тонус скелетних м'язів, координацію рухів і пам'ять інтактних тварин, не має анксиолітичних та антиамнестичних властивостей.

Висновки

1. Визначено вплив сухих екстрактів рутки Шлейхера та базиліку камфорного на поведінкові реакції, депресивність та тривожність, м'язовий тонус та координацію рухів, а також пам'ять експериментальних тварин.

2. Встановлено, що сухий екстракт рутки Шлейхера в дозі 100 мг/кг має потужні анксиолітичні властивості за відсутності негативного впливу на тонус скелетних м'язів та координацію рухів, а також характеризується помірним антиамнестичним ефектом.

3. Сухий екстракт базиліку камфорного не виявив достовірного впливу на показники загальноповедінкових тестів, м'язовий тонус, координацію рухів, а також на пам'ять інтактних та амнезованих тварин.

1. Лікарські рослини, що мають седативну, анксиолітичну та спржені види фармакологічної активності, їх біологічно активні речовини та механізми їхньої дії / С. А. Данилов, О. В. Товчига, С. І. Степанова [та ін.] // Фармаком. – 2011. – № 4. – С. 68–86.
2. Жариков Н. М. Психиатрия / Н. М. Жариков, Ю. Г. Тюльпин. – М. : Медицина, 2002. – 544 с.
3. Калинин В. В. Противосудорожные и психотропные свойства антиэпилептических препаратов при лечении больных эпилепсией / В. В. Калинин, Е. В. Железнова. – М. : Артинфо паблшинг, 2008. – 235 с.
4. Михайлов В. А. Актуальные вопросы эпилептологии – стигматизация, качество жизни и реабилитация больных / В. А. Михайлов // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2010. – Т. 2. – № 3. – С. 39–44.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М. : Гриф и К, 2012. – 944 с.
6. Скринінгові дослідження протисудомної активності сухих екстрактів із 8 видів рослин родин Solanaceae, Papaveraceae, Lamiaceae та Polemoniaceae / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, Ю. С. Прокопенко [та ін.] // Клінічна фармація. – 2012. – Т. 16. – № 4. – С. 47–50.
7. Deacon R. M. Housing, husbandry and handling of rodents for behavioral experiments / R. M. Deacon // Nature Protocols. – 2006. – V. 1. – № 2. – P. 936–946.
8. Disentangling the relationship between epilepsy and its behavioral comorbidities – The need for prospective studies in new-onset epilepsies / C. Helmstaedter, A. P. Aldenkamp, G. A. Baker [et al.] // Epilepsy & Behavior. – 2014. – V. 31. – P. 43–47.
9. Behavioral models of depression / R. D. Porsolt, A. Lenegre, J. M. Elliot [et al.] // Experimental Approaches to Anxiety and Depression. – Chichester New York, 1992. – P. 73–85.

В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, Б. А. Загинайченко

Исследование психотропных свойств потенциальных растительных антиконвульсантов

Изучены психотропные свойства сухих экстрактов дымянки Шлейхера и базилика камфорного, которые в предыдущих исследованиях проявили значительную противосудорожную активность. Установлено, что сухой экстракт дымянки Шлейхера, в отличие от сухого экстракта базилика камфорного, обладает выраженными анксиолитическими и умеренными антиамнестическими свойствами. Кроме того, исследуемые экстракты не влияют на поведение, уровень депрессивности, а также на мышечный тонус и координацию движений экспериментальных животных.

Ключевые слова: лекарственные растения, экстракты, противосудорожные средства, психотропные свойства

V. V. Tsyvunin, S. Yu. Shtrygol', B. A. Zaginaychenko

The investigation of psychotropic properties of the potential herbal anticonvulsants

This study investigated the influence of the perspective herbal anticonvulsants – fumitory (*Fumaria schleicheri* Soy.-Willem.) and basil (*Ocimum basilicum* L.) dry extracts – on behavioral reactions, level of depression and anxiety, memory, muscle tone and coordination of movements using different experimental models. It was revealed that fumitory dry extract (100 mg/kg) was without influence on mouse behavior in combined open field test and on the depression level in tail suspension test. Anxiety reduction in animals treated with fumitory dry extract is indicated by an increase in the total time spent in the open arms, an increase in entries into the open arms and the latency period of the first entrance to the closed arm in elevated plus maze test. It was proven that fumitory dry extract don't have a negatively impact on muscle tone and coordination of movements in rotating rod method. The results of the conditional reaction of passive avoidance test have shown the absence of influence of fumitory dry extract on memory in intact animals and moderate nootropic activity on the model of scopolamine-induced amnesia. Basil dry extract (100 mg/kg) has a tendency to increase the locomotor and research activity, but it doesn't influence on emotional sphere, depression and anxiety level, memory, muscle tone and coordination of movements. In general basil dry extract has no anxiolytic and nootropic properties, unlike fumitory dry extract in the same dose.

Thus, the fumitory dry extract at a dose of 100 mg/kg may considered to be a potential anticonvulsive medicine with a number of additional useful psychotropic properties.

Key words: medicinal plants, extracts, anticonvulsants, psychotropic properties

Надійшла: 19.03.2014 р.

Контактна особа: Цивунін Вадим Володимирович, магістр фармації, аспірант, старший лаборант, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 96 856 58 31. Електронна пошта: tsyvunin-vad@ukr.net.

В. Д. Лук'янчук¹, Є. М. Поліщук¹, І. Й. Сейфулліна²,
Н. В. Рисухіна¹, О. Е. Марцинко², О. А. Чебаненко²

Порівняльна оцінка фармакологічної активності координаційних сполук біс(цитрато)германатів та станатів на моделі закритої черепно-мозкової травми

¹ДЗ «Луганський державний медичний університет»
²Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Ключові слова: координаційні сполуки германію та олова, закрита черепно-мозкова травма

Важливою проблемою сучасної медицини залишається пошук та розробка засобів адекватної фармакокорекції багатокomпонентних порушень при травматичному пошкодженні головного мозку внаслідок закритої черепно-мозкової травми (ЗЧМТ). Проблема ЗЧМТ останніми десятиліттями набула неабиякого соціального значення. Травматичне пошкодження головного мозку, як причина інвалідизації та смертності, беззаперечно лідирує серед травм людини різних локалізацій, а в осіб молодого віку ЗЧМТ займає перше місце в структурі смертності, випереджаючи навіть пухлини та серцево-судинні захворювання [1].

Відомо, що травматичне ушкодження головного мозку запускає складний каскад метаболічних порушень, результатом якого є розвиток енергетичного дефіциту та процесів ендогенної інтоксикації. Внаслідок цього виникають вторинно зумовлені структурно-функціональні порушення нейронів, найчастіше ішемічного характеру [2]. Даний каскад метаболічних порушень реалізується із залученням низки біохімічних, патофізіологічних механізмів і проявляється тяжким перебігом клінічної симптоматики [3, 4]. Саме на корекцію такого типу ушкоджень і спрямована патогенетично обґрунтована медикаментозна терапія ЗЧМТ.

Сьогодні фахівці всього світу приділяють велику увагу фармакологічним властивостям координаційних сполук германію, які мають широкий спектр

фармакотерапевтичної дії [5–8], у тому числі церебропротекторну [9, 10]. Саме реалізація такого роду фармакодинамічних ефектів для корекції відповідних ланок патогенезу ЗЧМТ видається ефективною в ранньому періоді ЗЧМТ.

Мета дослідження – провести скринінг високоефективного засобу церебропротекторної дії на моделі ЗЧМТ серед уперше синтезованих комплексних сполук германію та стануму.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 200–220 г обох статей згідно з методичними рекомендаціями ДП «Державний експертний центр МОЗ України» [11] у лабораторії кафедри фармакології ДЗ «Луганський державний медичний університет» (ЛугДМУ), сертифікованій ДП «Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України»

Експериментальною моделлю ЗЧМТ був патологічний процес, що розвивається у тварин на тлі нанесення дозованого за силою та орієнтованого за локалізацією удару вільнопадаючим вантажем масою 45 г на тім'яну ділянку черепа щурів, що знаходилися під легким ефірним наркозом та були зафіксовані у вдосконаленій камері Когана за допомогою спеціального пристрою оригінальної конструкції [12]. Клінічна картина ЗЧМТ, що моделюється, відповідає ушкодженню головного мозку середнього ступеня [13].

Усі тварини були розподілені на групи по 6 щурів у кожній: інтактну, контрольну, референтну та 10 дослідних груп. Щурам дослідної серії внутрішньочеревинно вводили досліджувані сполуки у вигляді 1 % розчину в дозах

120 та 20 мг/кг (табл. 1) через 30 хв після нанесення дозованого удару. Відмінності в дозуванні сполук, що вивчаються, зумовлені ступенем попередньо визначеної токсичності. Як препарат порівняння було обрано загальновідомий та добре вивчений фармакотерапевтичний засіб церебропротекторної дії, що широко застосовують у неврологічній практиці та експериментальній фармакології – пірацетам (Дарниця, Україна), який тваринам референтної групи вводили в дозі 100 мг/кг у вигляді 20 % розчину також через 30 хв після моделювання патології. Контрольній серії щурів після нанесення ЗЧМТ внутрішньо-очеревинно вводили еквівалентну кількість ізотонічного розчину натрію хлориду. При виборі режиму дозування вищезазначених сполук виходили з багаторічного досвіду роботи співробітників кафедри фармакології ЛуГДМУ у сфері пошуку та розробки засобів фармакокорекції екстремальних станів гіпоксичного генезу [9–11], а також вивчення фармакодинаміки препаратів метаболічного типу дії [14, 15].

У скринінгових дослідженнях використовували різнометальні біс(цитрато)германати(станати), що синтезовані вперше в лабораторії кафедри загальної хімії та полімерів Одеського національного університету імені І. І. Мечникова під керівництвом доктора хімічних наук, професора І. Й. Сейфулліної: № 1 – магній біс(цитрато)германат, № 2 – манган біс(цитрато)германат, № 3 – ферум біс(цитрато)германат, № 4 – кобальт біс(цитрато)германат, № 5 – нікель біс(цитрато)германат, № 6 – цинк біс(цитрато)германат, № 7 – магній біс(цитрато)станат, № 8 – кобальт біс(цитрато)станат, № 9 – нікель біс(цитрато)станат, № 10 – цинк біс(цитрато)станат.

Фармакотерапевтичну ефективність усіх досліджуваних сполук оцінювали за 24 год після початку моделювання ЗЧМТ за маркерними показниками ендогенної інтоксикації посттравматичного генезу – умістом молекул середньої маси (МСМ) [16] та кінцевих продуктів ПОЛ – ТБК-реактантів [17] у крові щурів.

Таблиця 1

Критерії кількісної оцінки загального стану експериментальних тварин

Показник	Виразність показника	Оцінка в балах
Рухова активність	Відсутність ознаки	0
	Ознака виражена слабо	1
	Ознака виражена помірно	2
	Активний признак (що відповідає нормі)	3
Реакція на звук	Відсутність ознаки	0
	Ознака виражена слабо	1
	Ознака виражена помірно	2
	Активний признак (що відповідає нормі)	3
Реакція на больовий подразнювач	Відсутність ознаки	0
	Ознака виражена слабо	1
	Ознака виражена помірно	2
	Активний признак (що відповідає нормі)	3
Харчова поведінка	Їжу не вживає	0
	Вживає їжу в незначних кількостях	1
	Вживає їжу недостатньо	2
	Звичайний (відповідає нормі) харчовий режим	3
Питна поведінка	Воду не п'є	0
	Погано п'є воду	1
	П'є воду менше або значно більше за добову норму	2
	Звичайний питний режим	3

Оцінку загального стану експериментальних тварин проводили щодня протягом 3 діб за наступними запропонованими критеріями, що представлені в таблиці 1 [18]. Інтегральну тяжкість стану щурів виражали середньою арифметичною кількістю балів за критеріями, що наведені в таблиці 1.

Отримані результати обробляли за допомогою U-критерію Вілкоксона-Манна-Уїтні [19]. Відмінності вважали вірогідними при значимості не менше 95 % за допомогою пакета прикладних програм Statistica 6.0.

Результати та їх обговорення. Отримані в експерименті дані наведено в таблиці 2. Вони свідчать про наявність

у представників досліджуваної групи координаційних сполук германію з біолігандами фармакотерапевтичної ефективності різного ступеня. При цьому варто наголосити, що серед усіх досліджуваних субституентів максимальну здатність знижувати вміст універсальних маркерів ендогенної інтоксикації має сполука № 3 – ферум біс(цитрато)германат, на фоні введення якої концентрація МСМ знижується в 4,27 разу, а рівень ТБК-реактантів нижче на 25 % порівняно з контрольною групою. Більше того, за вмістом середньомолекулярних пептидів сполука № 3 у 1,75 разу перевершує цей показник відносно референтної групи (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив координаційних сполук германію та стануму з лимонною кислотою на вміст молекул середньої маси (МСМ) та ТБК-реактантів у крові щурів із ЗЧМТ, n = 6

Група тварин (шифр сполуки)	Хімічна назва та формула сполуки	Статистичний показник	Рівень МСМ (у. о.)	Рівень ТБК-реактантів (ммоль/мл)
Інтактна	–	M ± m	0,07 00,003	152,8 8,82
Контрольна (ЗЧМТ)	–	M ± m P ₁	0,551 0,011 > 0,05	196,6 14,14 0,043
Референтна (пірацетам, 100 мг/кг)	–	M ± m P ₁ P ₂	0,266 0,018 0,028 0,028	155,7 8,6 > 0,05 0,028
№ 1 (120 мг/кг)	Магній біс(цитрато)германат [Mg(H ₂ O) ₆][Ge(HCitr) ₂] · 4H ₂ O	M ± m P ₁ P ₂ P ₃	0,282 0,023 0,028 0,046 > 0,05	240,4 9,61 0,028 0,05 0,028
№ 2 (120 мг/кг)	Манган біс(цитрато)германат [Mn(H ₂ O) ₆][Ge(HCitr) ₂] · 4H ₂ O	M ± m P ₁ P ₂ P ₃	0,14 00,018 0,028 0,028 >0,05	145,3 10,2 0,025 0,046 0,028
№ 3 (120 мг/кг)	Ферум біс(цитрато)германат [Fe(H ₂ O) ₆][Ge(HCitr) ₂] · 4H ₂ O (Цереброгерм)	M ± m P ₁ P ₂ P ₃	0,129 0,007 0,028 0,028 0,028	147,43 7,26 > 0,05 0,028 > 0,05
№ 4 (20 мг/кг)	Кобальт біс(цитрато)германат [Co(H ₂ O) ₆][Ge(HCitr) ₂] · 4H ₂ O	M ± m P ₁ P ₂ P ₃	0,381 0,015 0,028 0,028 0,028	239,92 8,26 0,028 > 0,05 0,028

Група тварин (шифр сполуки)	Хімічна назва та формула сполуки	Статис- тичний показник	Рівень МСМ (у. о.)	Рівень ТБК- реактантів (ммоль/мл)
№ 5 (20 мг/кг)	Нікель біс(цитрато)германат $[\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Ge}(\text{HCitr})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	M $\pm m$ P_1 P_2 P_3	0,299 0,012 0,028 0,028 0,043	261,89 5,49 0,028 > 0,05 0,028
№ 6 (20 мг/кг)	Цинк біс(цитрато)германат $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Ge}(\text{HCitr})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	M $\pm m$ P_1 P_2 P_3	0,455 0,023 0,028 0,028 0,028	244,5 4,52 0,028 > 0,05 0,028
№ 7 (120 мг/кг)	Магній біс(цитрато)станат $[\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Sn}(\text{HCitr})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	M $\pm m$ P_1 P_2 P_3	0,257 0,015 0,028 0,028 0,035	149,3 8,71 > 0,05 0,028 > 0,05
№ 8 (20 мг/кг)	Кобальт біс(цитрато)станат $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Sn}(\text{HCitr})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	M $\pm m$ P_1 P_2 P_3	0,391 0,027 0,028 0,028 0,028	284,79 8,83 0,028 0,046 0,028
№ 9 (20 мг/кг)	Нікелю біс(цитрато)станат $[\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Sn}(\text{HCitr})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	M $\pm m$ P_1 P_2 P_3	0,466 0,017 0,028 0,028 0,028	256,4 8,39 0,028 0,025 0,028
№ 10 (120 мг/кг)	Цинк біс(цитрато)станат $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Sn}(\text{HCitr})_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	M $\pm m$ P_1 P_2 P_3	0,376 0,019 0,028 0,028 0,028	149,6 5,23 0,043 0,046 > 0,05

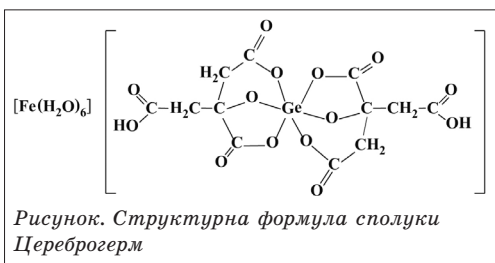
Примітка. Тут і в табл. 3: P розраховано за U -критерієм Вілкоксона-Манна-Уїтні, вірогідно порівняно з: P_1 – інтактною; P_2 – контрольною; P_3 – референтною групою.

Структурна формула сполуки № 3, яка отримала робочу назву Цереброгерм, представлена на рисунку.

Менший порівняно зі сполукою № 3 та референтним препаратом, але досить суттєвий церебропротекторний ефект за умов травматичного пошко-

дження головного мозку реалізує сполука № 2 – манган біс(цитрато)германат (табл. 2).

Дещо меншу церебропротекторну активність порівняно з фармакологічними речовинами № 3 та № 2 виявляють сполуки № 1 та № 7, при введенні яких вміст МСМ є в 2,2 та 2,0 разу відповідно вищим, ніж при застосуванні сполуки № 3. Проте сполука № 7 за рівнем ТБК-реактантів знаходиться на рівні з найефективнішою сполукою (№ 3), а сполука № 1 зовсім не здатна знижувати концентрацію ТБК-реактантів, і їхній рівень навіть вищий за такий, що є в контрольній групі тварин.



Уведення тваринам із ЗЧМТ сполуки № 10 показало найменший фармакотерапевтичний ефект. Хоча дана сполука і зменшувала вірогідно ($P < 0,05$) концентрацію ТБК-реактивних відносно контролю, за рівнем МСМ її показник був найгіршим, тобто в 3 рази вищим, ніж у сполуки-лідера № 3.

Аналіз результатів, отриманих при введенні сполук № 4, № 5, № 6, № 8 та № 9, показує, що вони мають досить низьку фармакотерапевтичну ефективність, тож їхнє подальше фармакологічне вивчення не є доцільним.

Результати біохімічних досліджень знайшли своє повне підтвердження і при аналізі клінічної картини раннього посттравматичного періоду після перенесеної ЗЧМТ на тлі застосування координаційних сполук германію та стануму.

Динаміка загального стану експериментальних тварин, наведена в таблиці 3, у цілому демонструє тяжкий перебіг раннього посттравматичного періоду ЗЧМТ. Показано, що нерухомість, млявість, загальмованість та пасивність найвираженіші в щурів контрольної групи не тільки в перші години після нанесення ЗЧМТ, але навіть через 3 доби спостереження. Гіпоксією та ішемією головного мозку, що виникає внаслідок травми, пояснюється апатія та напівнепритомний стан, що спостерігаються у щурів протягом перших 4–6 год. Крім того, у контрольних щурів майже відсутня спонтанна рухова активність, а також реакція на дотик та пощипування хвоста та кінцівок аж до значного підвищення порогу чутливості до рівня індукованого болю. Різка адинамія проявляється тим, що тварини контрольної групи протягом 4–6 год після травми лежать на животі з витягнутими впродовж тулуба кінцівками і лише під кінець першої доби спостереження починають мляво пересуватися. При цьому жодна тварина не вживає води і їжі протягом півтори діб. Реакція на світлові й звукові подразники в контрольних щурів різко знижена, майже до повної відсутності. І навіть на 3 добу спостереження відновлення загального стану щурів із ЗЧМТ, що

не отримали лікування, не відбувається. Це, вірогідно, пояснюється розвитком значного набряку-набухання головного мозку, який і зумовлює зазначену вище центральну симптоматику.

Порівняльна оцінка клінічної картини тварин різних груп показує, що їхній загальний стан має різний ступінь тяжкості залежно від сполуки, що застосовували. Так, на фоні введення сполуки № 3 плин клінічної картини екстремального стану, що моделюється, за кількісними показниками (табл. 3) найсприятливіший порівняно не тільки з контролем, а й з іншими сполуками та референтною групою. Це проявляється відносно ранньою (через 6 год) нормалізацією дихання, а також досить швидким відновленням рухової активності, а через 10 год після отримання травми щури на тлі застосування сполуки № 3 (Цереброгерму) достатньо вільно пересуваються по клітці, приймають їжу, п'ють воду, помірно реагують на тактильні та звукові подразники. Зазначимо, що на 3 доби спостереження загальний стан щурів, яких лікували ферумбіс(цитрат)германатом, не відрізняється від інтактних тварин.

Близькою до вищеописаного стану є клінічна картина на тлі введення сполуки № 2, проте, у деяких щурів ще й на 3 добу експерименту стан повністю не відновився, про що свідчать більш низькі кількісні показники (табл. 3). У цих тварин спостерігали деяку млявість, помірну реакцію на звуковий та больовий подразнювачі, менше за добову норму споживання їжі та води.

Дещо гіршим є загальний стан щурів із ЗЧМТ на тлі введення сполук № 7 та № 1, а найгіршим та приблизно однаковим є загальний стан щурів із ЗЧМТ, яких лікували сполуками за номерами 4, 5, 6, 8, 9 та 10. При цьому стан тварин, що отримали сполуки № 4, № 8 та № 9 (табл. 3), упродовж 3 діб спостереження майже не відрізнявся від щурів групи контролю, загальний стан яких було описано вище.

*Динаміка загального стану експериментальних тварин при застосуванні
координаційних сполук германію та стануму з лимонною кислотою
на моделі ЗЧМТ, n = 6*

Група тварин	Статистичний показник	Загальний стан тварин (у балах)		
		1 доба	2 доба	3 доба
Інтактна	$M \pm m$	$3,00 \pm 0,00$	$3,00 \pm 0,00$	$3,00 \pm 0,00$
Контрольна	$M \pm m$	$0,17 \pm 0,17$	$0,67 \pm 0,21$	$1,00 \pm 0,00$
	P_1	0,028	0,028	0,028
Пірацетам (100 мг/кг)	$M \pm m$	$1,33 \pm 0,21$	$1,50 \pm 0,22$	$2,17 \pm 0,17$
	P_1	0,028	0,028	0,043
	P_2	0,043	0,043	0,028
№ 1 (120 мг/кг)	$M \pm m$	$0,83 \pm 0,17$	$1,17 \pm 0,17$	$2,00 \pm$
	P_1	0,028	0,028	00,028
	P_2	> 0,05	> 0,05	0,028
	P_3	> 0,05	> 0,05	> 0,05
№ 2 (120 мг/кг)	$M \pm m$	$1,33 \pm 0,21$	$1,50 \pm 0,22$	$2,50 \pm 0,22$
	P_1	0,028	0,028	> 0,05
	P_2	0,043	0,043	0,028
	P_3	> 0,05	> 0,05	> 0,05
№ 3 (120 мг/кг)	$M \pm m$	$1,50 \pm 0,22$	$1,83 \pm 0,17$	$3,00 \pm 0,00$
	P_1	0,028	0,028	> 0,05
	P_2	0,043	0,028	0,028
	P_3	> 0,05	> 0,05	0,043
№ 4 (20 мг/кг)	$M \pm m$	$0,33 \pm 0,21$	$0,83 \pm 0,17$	$1,00 \pm 0,00$
	P_1	0,028	0,028	0,028
	P_2	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	P_3	0,043	> 0,05	0,028
№ 5 (20 мг/кг)	$M \pm m$	$0,50 \pm 0,22$	$1,00 \pm 0,00$	$1,17 \pm 0,17$
	P_1	0,028	00,028	0,028
	P_2	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	P_3	0,043	> 0,05	0,028
№ 6 (20 мг/кг)	$M \pm m$	$0,83 \pm 0,17$	$1,17 \pm 0,17$	$1,33 \pm 0,21$
	P_1	0,028	0,028	0,028
	P_2	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	P_3	0,028	> 0,05	0,043
№ 7 (120 мг/кг)	$M \pm m$	$1,33 \pm 0,21$	$1,50 \pm 0,22$	$2,17 \pm 0,17$
	P_1	0,028	0,028	0,043
	P_2	0,043	0,043	0,028
	P_3	> 0,05	> 0,05	> 0,05
№ 8 (20 мг/кг)	$M \pm m$	$0,17 \pm 0,17$	$0,50 \pm 0,22$	$1,00 \pm 0,00$
	P_1	0,028	0,028	0,028
	P_2	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	P_3	0,028	0,028	0,028
№ 9 (20 мг/кг)	$M \pm m$	$0,33 \pm 0,21$	$0,83 \pm 0,17$	$1,00 \pm 0,00$
	P_1	0,028	0,028	0,028
	P_2	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	P_3	0,043	> 0,05	0,028
№ 10 (120 мг/кг)	$M \pm m$	$0,50 \pm 0,22$	$1,00 \pm 0,00$	$1,17 \pm 0,17$
	P_1	0,028	0,028	0,028
	P_2	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	P_3	0,043	> 0,05	0,028

Висновок

На підставі отриманих результатів комплексного скринінгового дослідження на моделі травматичного пошкодження головного мозку серед нових координаційних біс(цитрато)германатів і станатів найвиразніший лікувальний ефект проявляє координаційна сполука ферум біс(цитрато)германат (Цереброгерм). Про це свідчить її найбільша здатність знижувати вміст таких маркерів посттравматичної ендогенної інтоксикації, як ТБК-реактанти

та середньомолекулярні пептиди, у тому числі й порівняно з референтним препаратом. Усе це цілком співвідноситься з більш сприятливим перебігом клінічної картини раннього посттравматичного періоду ЗЧМТ. З огляду на це, є всі підстави вважати експериментально обґрунтованою високу фармакотерапевтичну ефективність Цереброгерму, що робить доцільними подальші поглиблені дослідження з метою з'ясування механізмів реалізації його лікувальної дії за умов ЗЧМТ.

1. Беленичев И. Ф. Современные направления нейропротекции в терапии острого периода патологии головного мозга различного генеза / И. Ф. Беленичев, Н. В. Бухтиярова, А. Д. Середа // Международный неврологический журнал. – 2010. – № 2 (32). – С. 76–86.
2. Факторы риска летального исхода в остром периоде травматической болезни / Е. А. Лебедева, А. Д. Беляевский, А. А. Куртасов, З. А. Немкова // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 4. – С. 24–29.
3. Живолупов С. А. Патогенетические механизмы травматической болезни головного мозга и основные направления их коррекции / С. А. Живолупов, И. Н. Самарцев, С. В. Коломенцев // Журнал неврологии и психиатрии. – 2009. – № 10. – С. 42–46.
4. Корекція порушень церебральної гемодинаміки та когнітивних порушень у хворих з легкою черепно-мозковою травмою / Л. А. Дзяк, В. М. Сук, А. Г. Сірко [та ін.] // Нейро News: психоневрологія і нейропсихіатрія. – 2009. – № 1 (12). – С. 72–76.
5. Скринінг та порівняльна оцінка ефективності засобів детоксикації серед координаційних сполук германію з біолігандами при синдромі тривалого розчавлювання / В. Д. Лук'янчук, І. Й. Сейфулліна, Н. В. Рисухіна [та ін.] // Одеський медичний журнал. – 2007. – № 1. – С. 15–19.
6. Координаційні сполуки германію – потенційні засоби знешкодження при ендотоксикозі / В. Й. Кресюн, Т. Р. Лучишин, І. Й. Сейфулліна [та ін.] // Журнал АМН України. – 2012. – Т. 18, № 1. – С. 120–125.
7. Immunological control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in an immunodeficient murine model of thermal injuries / T. Katakura, T. Yoshida, M. Kobayashi [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 2005. – V. 142 (3). – P. 419–25.
8. Effectiveness of propagermanium treatment in multiple myeloma patients / Y. Tsutsumi, J. Tanaka, H. Kanamori [et al.] // Eur. J. Haematol. – 2004. – V. 73 (6). – P. 397–401.
9. Скринінг і порівняльна оцінка протиішемічної ефективності серед координаційних сполук германію при гострій цереброваскулярній недостатності / В. Д. Лук'янчук, І. О. Житіна, І. Й. Сейфулліна [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 1–2 (14–15). – С. 61–64.
10. Скрининг потенциальных церебропротекторов в ряду новых координационных соединений германия с комплексами и гидроксикарбоновыми кислотами на модели тотальной ишемии головного мозга / В. Д. Лук'янчук, О. В. Крылова, И. И. Сейфуллина, В. М. Ткаченко // Український журнал екстремальної медицини імені Г. О. Можаяєва. – 2008. – Т. 9, № 4. – С. 122–125.
11. Доклинические исследования лекарственных средств: [метод. рекоменд. / под ред. чл.-корр. АМН Украины А. В. Стефанова]. – К., 2002. – 567 с.
12. Патент на корисну модель 13678, Україна, МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання черепно-мозкової травми / В. Д. Лук'янчук, О. В. Шевчук, О. В. Бадінов. – № u 2005 09483; Заявл. 10.10.05; Опубл. 17.04.06, Бюл. №4 – 8 с.
13. Травматология: национальное руководство / под ред. Г. П. Котельникова, С. П. Миронова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 808 с. – (Серия «Национальные руководства»).
14. Садовник О. В. Вплив корвітину на параметри біохімічної детоксикації у тварин з механічною травмою головного мозку / О. В. Садовник, О. В. Шевчук, В. Д. Лук'янчук // Современные проблемы токсикологии. – 2008. – № 2. – С. 74–77
15. Гаврилов І. І. Основи патогенезу синдрому тривалого розчавлення та теоретичне обґрунтування доцільності доклінічного вивчення корвітину як засобу фармакотерапії / І. І. Гаврилов // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2011. – Т. 6, № 3. – С. 5–11.
16. Корякина Е. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 3. – С. 3–7.

-
17. *Стальная И. Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Стальная И. Д., Гаршвили Г. Г. // Современные методы в биохимии: Под ред. Ореховича В. И. – М. : Медицина, 1977. – С. 57–59.
 18. *Фадеев С. Б.* Интегральная количественная оценка общего состояния животных в экспериментальной хирургии // С. Б. Фадеев, Д. В. Волков / Вестник ОГУ. – 2013. – № 1 (150). – С. 147–150.
 19. *Петри А.* Наглядная статистика в медицине / А. Петри, К. Сэбин; пер. с англ. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2003. – 143 с.

**В. Д. Лукьянчук, Е. М. Полищук, И. И. Сейфуллина, Н. В. Рисухина,
О. Е. Марцинко, А. А. Чебаненко**

Сравнительная оценка фармакологической активности координационных соединений бис(цитрато)германатов и станнатов на модели закрытой черепно-мозговой травмы

Проблема закрытой черепно-мозговой травмы (ЗЧМТ) за последние десятилетия приобрела широкое социальное значение. Травматическое повреждение головного мозга, как причина инвалидизации и смертности, несомненно, лидирует среди травм человека различных локализаций. В настоящее время специалисты всего мира уделяют большое внимание фармакологическим свойствам координационных соединений германия и стannума, которые обладают широким спектром фармакотерапевтической активности, в том числе церебропротекторными свойствами. Фармакотерапевтическую эффективность всех исследуемых соединений оценивали через 24 ч после моделирования ЗЧМТ по маркерным показателям эндогенной интоксикации посттравматического генеза в крови крыс – уровню молекул средней массы (МСМ) и конечных продуктов ПОЛ – ТБК-реактантов. Оценку общего состояния экспериментальных животных проводили ежедневно в течение 3 сут по критериям, которые выражались средним арифметическим количеством баллов. В результате комплексного скринингового исследования на модели ЗЧМТ среди представителей координационных комплексов германия и стannума выделено соединение, проявляющее наибольшую эффективность, которым является бис(цитрато)германат железа (Цереброгерм). Установлено, что Цереброгерм достоверно снижает показатели эндотоксикоза в крови (ТБК-реактанты, МСМ). При этом течение клинической картины раннего посттравматического периода ЗЧМТ более благоприятное. Это является основанием считать целесообразными последующие углубленные исследования механизмов реализации лечебного действия Цереброгерм в условиях ЗЧМТ.

Ключевые слова: координационные соединения германия и олова, закрытая черепно-мозговая травма

**V. D. Lukjanchuk, Y. M. Polishchuk, I. J. Seifullina, N. V. Rysukhina,
O. E. Martsynko, O. A. Chebanenko**

Comparative study of pharmacological activity of the coordination compounds bis(citrate)germanates and stannates on the model of closed cranio-cerebral injury

The problem of closed craniocerebral trauma (intracranial injury) over the past decade has gained a broad social significance. Traumatic brain injury as a cause of morbidity and mortality undoubtedly lead among other human injuries of different locations. Now experts all over the world pay much attention to the pharmacological properties of coordination compounds of germanium and stannum, which possess a wide range of pharmacotherapeutic activities, including cerebroprotective properties. Pharmacotherapeutic efficiency of all the test compounds was evaluated in 24 hours after modeling of intracranial injury on the level marker for endogenous intoxication of traumatic genesis in rats' blood - middle weight molecules and end products of lipid peroxidation – TBA- reactants. The general condition of the experimental animals was carried out daily for 3 days according to the criteria which were expressed in arithmetic average number of points. As a result of complex screening study on the model of closed craniocerebral injury (intracranial injury) among the coordination complexes of germanium and stannum was found a compound showing the highest efficiency, which is bis(citrate)germanate with iron (Cerebrogerm). It was found that Cerebrogerm significantly reduces indexes of endotoxemia in the blood serum (TBA-reactants, middle weight proteins). At the same time the clinical picture of early posttraumatic period of intracranial injury is more favorable. It serves as a basis for subsequent researches of the mechanisms of realization of it's treatment action in conditions of intracranial injury.

Key words: coordinative germanium and stannum compounds, closed cranio-cerebral injury

Надійшла: 24.03.2014 р.

Контактна особа: Лук'янчук Віктор Дмитрович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», буд. 1, кв. 50-річчя Оборони Луганська, м. Луганськ, 91045. Тел.: + 38 0642 63 02 77. Електронна пошта: r.i.n.a@bk.ru

Є. В. Мокляк, Н. О. Власенко, О. М. Важнича

Уміст еритропоетину при корекції похідним 3-гідроксипіридину гострого стресу з різним ступенем ушкодження системи еритрону

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Ключові слова: 3-гідроксипіридин, мексидол, еритропоетин, стрес, крововтрата, іммобілізація

Вирішальне значення в регуляції еритропоезу має еритропоетин (ЕПО), який утворюється в нирках і, меншою мірою, у печінці, селезінці, кістковому мозку [1]. Ефекти ЕПО полягають у регуляції проліферації та диференціації колоніє-утворюючих одиниць еритроцитарних, про- та еритробластів, прискоренні синтезу гемоглобіну в еритроїдних клітинах та ретикулоцитах, ініціації синтезу цитоскелету еритроцитів, гальмуванні апоптозу, збільшенні кровообігу в мієлоїдній тканині та виході в циркуляцію ретикулоцитів [2]. Сигнальні шляхи трансдукції гена еритропоетину пов'язані з кисневим сенсором нирок та фактором, що індукується гіпоксією-1 (HIF-1 α) [3], адренергічною стимуляцією [3, 4] та зниженням рівня заліза в організмі за рахунок його втрати або хелатування [5]. Показано, що стрес супроводжується змінами вмісту ЕПО у плазмі крові та кістковому мозку, що забезпечує розвиток відомої адаптивної реакції еритрону – постстресорної активації еритропоезу [6], а також може бути основою для реалізації його нейропротекторної дії [7].

Водночас практично не вивчено, як впливають на індукцію ЕПО стреспротективні засоби. Встановлення того факту, що відомий стреспротектор 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину (ГП) сукцинат (мексидол) неоднозначно діє на еритропоез при анемічному (викликаному крововтратою) та іммобілізаційному стресі [8, 9], дозволило припустити, що ці відмінності пов'язані з регуляцією препаратом рівня ЕПО в

організмі. *Мета дослідження* – вивчити особливості впливу 2-етил-6-метил-3-ГП сукцинату (мексидолу) на вміст ЕПО у плазмі крові експериментальних тварин при стресі з різним ступенем ушкодження еритрону.

Матеріали та методи. Експерименти виконано на 46 білих щурах-самцях лінії Wistar масою 180–200 г, яких утримували за стандартних умов віварію. На проведення експерименту було одержано дозвіл комісії з питань біоетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Гострий анемічний стрес відтворювали шляхом вилучення з серця крові в кількості 2 мл на 100 г маси тіла тварини під загальною анестезією [10]. Гострий іммобілізаційний стрес моделювали шляхом атравматичної жорсткої фіксації щурів на спині протягом 3 год [11]. За точку відліку часу приймали початок дії стресорного фактора.

Мексидол вводили тваринам інтраперитонеально в дозі 100 мг/кг маси відразу після крововтрати або початку іммобілізації. Цю дозу вибирали на основі даних літератури як таку, що знаходиться в середині діапазону ефективних доз препарату (10–300 мг/кг) [12]. Розчин мексидолу готували *ex tempore* з субстанції препарату, одержаної від виробника (ОАО «Бион», РФ). Тваринам з контрольною патологією вводили розчинник (вода для ін'єкцій). Евтаназію тварин і взяття дослідного матеріалу здійснювали через 3 та 72 год. У плазмі крові визначали вміст ЕПО методом імуоферментного аналізу [13] за допомогою наборів «Rat Erythropoietin (EPO) ELISA Kit» (Cusabio, China). Одержані результати статистично обробляли за стандартними комп'ютерними програмами. Визначення вірогідності різниці між групами

проводили з використанням критерію t Стьюдента з поправкою Бонферроні [14], що при порівнянні трьох груп (інтактні – крововтрата – крововтрата + мексидол або інтактні – іммобілізація – іммобілізація + мексидол) дорівнює $p < 0,017$.

Результати та їх обговорення. Показано, що при моделюванні анемічного стресу через 3 год після вилучення крові вміст ЕПО у плазмі не змінюється порівняно з контролем (таблиця). Через 72 год після крововтрати цей показник вірогідно зростає і перевищує такий у 2 рази як у контролі, так і в попередньому терміні спостережень.

Застосування 2-етил-6-метил-3-ГП сукцинату при анемічному стресі викликає збільшення концентрації ЕПО у плазмі крові через 3 год після крововтрати в 1,5 разу порівняно з контрольною патологією, що однак не є вірогідним (таблиця). Протягом наступного часу зростання вмісту ЕПО під дією препарату також відбувається випереджаючими темпами, і через 72 год концентрація досліджуваного гормону в плазмі крові перевищує в 2,5 разу таку в інтактних тварин, але суттєво не відрізняється від контрольної патології.

Відтворення гострого іммобілізаційного стресу викликає інтенсивніше підвищення концентрації ЕПО у плазмі крові на початковому етапі спостере-

жень, ніж моделювання анемічного стресу. У даному разі через 3 год від початку стресорного впливу вміст ЕПО збільшується вірогідно в 2,2 разу порівняно з контролем (таблиця). Через 72 год він лишається підвищеним у 2,4 разу порівняно з показниками інтактних тварин контрольної групи і не відрізняється від попереднього терміну спостережень.

Застосування мексидолу при гострому іммобілізаційному стресі супроводжується нижчими значеннями вмісту ЕПО порівняно з контрольною патологією. Зокрема, через 72 год уміст гормона під дією похідного 3-ГП зменшується в 1,6 разу порівняно з таким при стресі без фармакологічної корекції (таблиця).

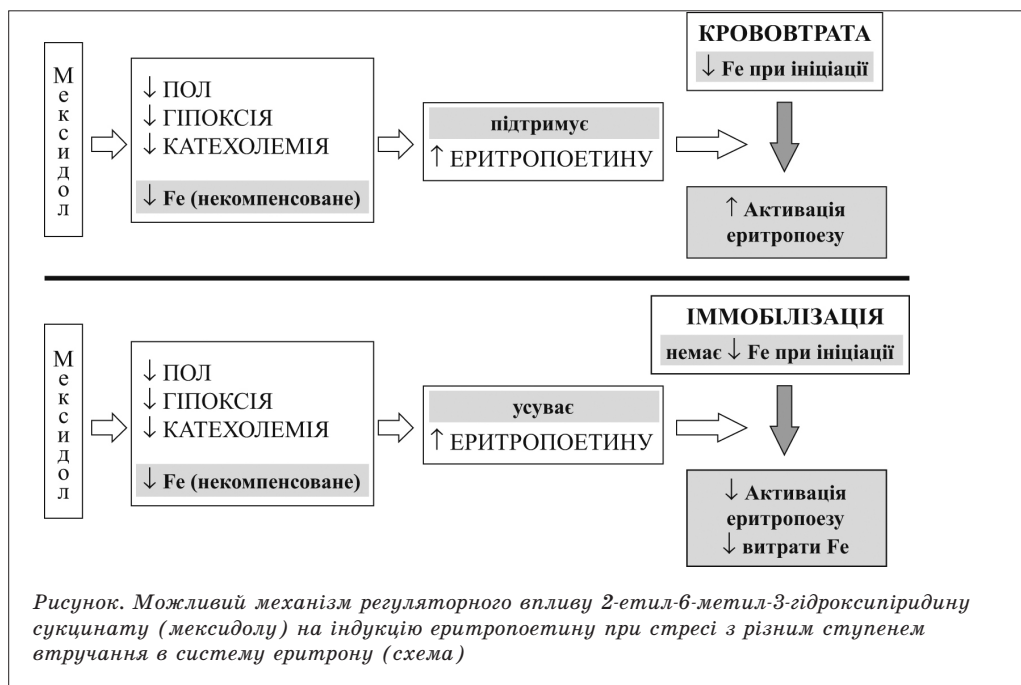
Одержані результати щодо індукції ЕПО при стресі, яка триває не тільки в стадії тривоги, а й у стадії резистентності, узгоджуються з даними літератури [6]. Збільшення секреції гормона зумовлює постстресорну активацію медулярного еритропоезу, описану в літературі та відмічену нами за даних моделей експериментальної патології [8, 9]. Водночас привертає увагу відсутність суттєвого відгуку концентрації ЕПО на крововтрату через 3 год після вилучення крові, яке є найбільш специфічним і сильним стимулом для його секреції [15, 16]. Вочевидь такий парадоксальний

Таблиця

Вплив мексидолу на вміст еритропоєтину в плазмі крові тварин при гострому анемічному та іммобілізаційному стресі, $M \pm m$

№	Група тварин		Уміст еритропоєтину, нг/мл	
	Характер впливу	Корекція	3 год	72 год
1	Інтактні	–	$1,34 \pm 0,26$ (5)	$1,34 \pm 0,26$ (5)
2	Крововтрата	Розчинник	$1,32 \pm 0,23$ (5) $P_{1-2} > 0,5$	$2,70 \pm 0,31$ (5) $P_{1-2} < 0,01$
3	Крововтрата	Мексидол	$1,98 \pm 0,10$ (6) $P_{1-3} < 0,05$ $P_{2-3} < 0,05$	$3,30 \pm 0,19$ (5) $P_{1-3} < 0,001$ $P_{2-3} > 0,5$
4	Іммобілізація	Розчинник	$2,98 \pm 0,18$ (5) $P_{1-4} < 0,001$	$3,19 \pm 0,37$ (5) $P_{1-4} < 0,005$
5	Іммобілізація	Мексидол	$2,17 \pm 0,23$ (5) $P_{1-4} < 0,05$ $P_{4-5} < 0,05$	$1,98 \pm 0,16$ (5) $P_{1-4} > 0,5$ $P_{4-5} < 0,01$

Примітка. У дужках наведено кількість спостережень; інтактна група – спільна для обох термінів спостережень; у таблиці наведено двічі для зручності порівняння; вірогідна різниця з поправкою Бонферроні $p < 0,017$.



факт можна пояснити гемодилуцією, що розвивається в цей період як одна з закономірних компенсаторних реакцій при крововтраті [17].

Виявилося, що застосування мексидолу по-різному впливає на вміст ЕПО у плазмі крові при анемічному та іммобілізаційному стресі, у першому випадку підтримуючи секрецію цього фактора, а в другому – пригнічуючи її, що узгоджується зі станом медулярного еритропоезу та вмістом ретикулоцитів у крові тварин, яким вводили похідне 3-ГП з метою фармакокорекції стрес-синдрому [8, 9]. Постає питання, який механізм може бути основою регуляторного впливу 2-етил-6-метил-3-ГП сукцинату на секрецію ЕПО при стресі з різним ступенем ушкодження еритропу. Вочевидь, такі моменти трансдукції ЕПО, як гіперкатехолемія, гіпоксія та надлишкова ліпопероксидація, усуваються мексидолом незалежно від природи стресора [18]. Слід припустити, що диференціальним фактором є втрата заліза на стадії ініціації стрес-синдрому та вплив препарату на його вміст в організмі, який згідно з припущенням Г. І. Клебанова та співавт. (2006 р.) може носити характер хелатування [19], що за умов анемічного стресу збе-

рігає (або додатково посилює) шлях трансдукції ЕПО, пов'язаний з втра-тою заліза в складі гемоглобіну, тоді як при іммобілізації наслідки імовірного хелатування компенсуються за рахунок депо (рисунок).

Отже, мексидол у дозі 100 мг/кг маси тіла здатний регулювати рівень ЕПО при стресі, причому при анемічному стресі (крововтраті) препарат підтримує, а при іммобілізаційному стресі – знижує рівень цього гормону в плазмі крові в стадії резистентності стрес-синдрому (72 год).

Висновки

1. Розвиток стрес-синдрому в білих щурів супроводжується підвищенням вмісту ЕПО у плазмі крові, що реєструється при гострому анемічному стресі (крововтраті) через 72 год, а при іммобілізаційному стресі – через 3 та 72 год від початку дії стресорного фактора.

2. 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат (мексидол) (100 мг/кг) підтримує підвищену концентрацію ЕПО у плазмі крові при крововтраті та зменшує її при іммобілізації, тобто демонструє регуляторний вплив на рівень цього гормону, що залежить від ступеня ушкодження еритропу під час ініціації стрес-синдрому.

1. Koury M. J. Erythropoietin: the story of hypoxia and a finely regulated hemopoietic hormone / M. J. Koury // *Exp. Hematol.* – 2005. – V. 33. – P. 1263–1270.
2. Лебедева Е. А. Эффекты эритропоэтина в клинике и эксперименте / Е. А. Лебедева, А. Д. Беляевский, М. Е. Белоусова // *Фундаментальные исследования.* – 2012. – № 10 (Ч. 1). – С. 157–161.
3. Бакшеев В. И. Эритропоэтин в клинической практике: прошлое, настоящее и будущее (обзор литературы) / В. И. Бакшеев, Н. М. Коломоец // *Клиническая медицина.* – 2007. – № 9. – С. 30–37.
4. Franklin Bunn H. New agents that stimulate erythropoiesis / H. Franklin Bunn // *Blood.* – 2007. – V. 109, № 3. – P. 868–873.
5. Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs) / C. Peyssonnaud, A. S. Zinkernagel, R. A. Schuepbach [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2007. – V. 117, № 7. – P. 1926–1932.
6. Мамылина Н. В. Адаптационно-компенсаторные реакции в системе эритрон при экспериментальном эмоционально-болевым стрессе : дисс. д-ра биол. наук : 03.03.01 / Мамылина Наталья Владимировна. – Челябинск, 2012. – 365 с.
7. Genc S. I. Erythropoietin and the nervous system / S. I. Genc, T. F. Koroglu, K. Genc // *Brain Res.* – 2004. – V. 1000, № 1–2. – P. 19–31.
8. Власенко Н. О. Вплив 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинату на регенераторну реакцію еритроноу при гострій крововтраті / Н. О. Власенко, О. М. Важнича // *Фармацевтичний часопис.* – 2013. – № 1 (25). – С. 181–185.
9. Власенко Н. О. Дія мексидолу на постстресорну активацію еритро- та грануло-моноцитопоезу в кістковому мозку / Н. О. Власенко // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* – 2013. – № 1 (32). – С. 39–43.
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації / [наук. ред. О. В. Стефанов]. – К. : Авіцена, 2001. – 527 с.
11. Горизонтов П. Д. Стресс и система крови / П. Д. Горизонтов, О. И. Белоусова, М. И. Федотова. – М. : Медицина, 1983. – 240 с.
12. Воронина Т. А. Мексидол. Основные эффекты, механизм действия, применение / Т. А. Воронина. – М., 2005. – 20 с.
13. Иммуно-ферментный анализ : руководство / [под ред. Т. Т. Нго, Г. Ленхоффа] ; [пер. с англ., под ред. А. М. Егорова]. – М. : Мир, 1988. – 444 с.
14. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – [пер. с англ. Ю. А. Данилова]. – М. : Практика, 1999. – 459 с.
15. Paulson R. F. Stress erythropoiesis: new signals and new stress progenitor cells / R. F. Paulson, L. Shi, D. C. Wu // *Curr. Opin. Hematol.* – 2011. – V. 18, № 3. – P. 139–145.
16. Erythroid expansion and survival in response to acute anemia stress: the role of EPO receptor, GATA-1, Bcl-xL and caspase-3 / G. R. Aispuru, M. V. Aguirre, J. A. Aquino-Esperanza [et al.] // *Cell. Biol. Int.* – 2008. – V. 32, № 8. – P. 966–978.
17. Усенко Л. В. Интенсивная терапия при кровопотере : [практическое руководство] / Л. В. Усенко, Г. А. Шифрин. – Днепропетровск : Издательство «Новая идеология», 2007. – 290 с.
18. Яснецов В. В. Защитный эффект производных 3-гидроксипиридина в экстремальных условиях / В. В. Яснецов // *Авиакосмическая и экологическая медицина.* – 2007. – Т. 41, № 6. – С. 5–12.
19. Клебанов Г. И. Антиоксидантная активность ингибиторов свободно-радикальных реакций, используемых в перевязочном материале для лечения ран / Г. И. Клебанов, О. Б. Любичкий, С. Е. Ильина // *Биомедицинская химия.* – 2006. – Т. 52, № 1. – С. 69–82.

Є. В. Мокляк, Н. О. Власенко, О. М. Важнича

Уміст еритропоетину при корекції похідним 3-гідроксипіридину гострого стресу з різним ступенем ушкодження системи еритрону

В експериментах на 46 білих щурах-самцях відтворювали гострий анемічний або іммобілізаційний стрес. З метою фармакологічної корекції тваринам вводили 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат (мексидол) інтраперитонеально в дозі 100 мг/кг маси відразу після крововтрати або початку іммобілізації. Уміст еритропоетину (ЕПО) у плазмі крові визначали методом імуно-ферментного аналізу. Показано, що розвиток стрес-синдрому супроводжується підвищенням вмісту ЕПО, яке реєструється при анемічному стресі (крововтраті) через 72 год, а при іммобілізаційному стресі – через 3 та 72 год від початку дії стресорного фактора. Мексидол підтримує підвищену концентрацію ЕПО у плазмі крові при крововтраті та зменшує її при іммобілізації, тобто демонструє регуляторну дію на рівень цього гормону залежно від ступеня ушкодження еритрону під час ініціації стрес-синдрому.

Ключові слова: 3-гідроксипіридин, мексидол, еритропоетин, стрес, крововтрата, іммобілізація

Е. В. Мокляк, Н. А. Власенко, Е. М. Важничая

**Содержание эритропоэтина при коррекции производным
3-гидроксипиридина острого стресса с разной степенью повреждения
системы эритрона**

Известно, что стресс приводит к изменениям концентрации эритропоэтина (ЭПО) в организме, что обеспечивает развитие постстрессорной активации эритропоэза, а также реализацию нейропротекторного действия ЭПО, но влияние лекарственных препаратов на вышеуказанные процессы исследовано слабо. Цель исследования – изучить особенности влияния 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината (мексидола) на содержание ЭПО в условиях двух видов стресса с различной степенью повреждения системы эритрона. Острый анемический стресс (как кровопотеря) и иммобилизационный стресс воспроизводили у 46 белых крыс-самцов линии Вистар. Мексидол вводили внутривенно в дозе 100 мг/кг сразу же после кровопотери или начала иммобилизации. Крысы контрольных групп получали инъекцию растворителя. Через 3 и 72 часа от начала действия стрессора животных подвергали эвтаназии. Содержание ЭПО в плазме крови определяли с помощью иммуноферментного анализа. Показано, что развитие стресс-синдрома сопровождается повышением уровней ЭПО в 2–2,4 раза ($p < 0,01–0,001$) по сравнению с интактными животными, что регистрируется через 72 часа при анемическом стрессе (кровопотере) и через 3 и 72 часа при иммобилизационном стрессе. По-видимому, гемодилюция, как нормальная компенсаторная реакция, объясняет отсутствие достоверных изменений концентрации ЭПО в ранний период после кровопотери. Введение мексидола поддерживает повышенное содержание ЭПО при острой кровопотере. В то же время препарат уменьшает этот параметр в 1,6 раза ($p < 0,01$) при иммобилизации, то есть проявляет регулирующее действие на уровень ЭПО в зависимости от степени повреждения эритрона во время инициации стресс-синдрома. Предполагается, что потеря железа и прямое взаимодействие производного 3-гидроксипиридина с этим элементом может быть ключевой причиной наблюдаемых особенностей.

Ключевые слова: 3-гидроксипиридин, мексидол, эритропоэтин, стресс, кровопотеря, иммобилизация

Ye. V. Mokliak, N. A. Vlasenko, Ye. M. Vazhnichaya

Erythropoietin content in correction by 3-hydroxypyridine derivative the acute stress with various degree of erythron system damage

It is known that stress leads to the changes in concentration of erythropoietin (EPO) in the organism that provides the development of post-stress activation of erythropoiesis as well as realization of EPO's neuroprotective action, but the influence of medicinal drugs on the mentioned processes is investigated poorly. The goal of this paper was to study the peculiarities of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate (mexidol) influence on the EPO content under the conditions of two kinds of stress with different damage of erythron system. Acute anemic stress as blood loss and immobilization stress were designed in 46 albino male Wistar rats. The animals were administered with mexidol intraperitoneally in the dose of 100 mg/kg immediately after the blood loss or beginning of immobilization. Rats of control groups received the injection of solvent. After 3 or 72 h from the start of stressor's action they were euthanized. EPO content in blood plasma was determined by enzyme-linked immunosorbent assay. It is shown that development of stress syndrome is accompanied by enhance of EPO levels in 2–2,4 times ($p < 0,01–0,001$) as compared to intact animals that is registered within 72 h in anemic stress (blood loss), and within 3 and 72 h in the immobilization stress. Hemodilution, as a normal compensatory reaction, probably, is the reason for the absence of significant changes in EPO concentration in the early period after the blood loss. Mexidol's administration maintains enhanced EPO concentration in acute blood loss. At the same time, the drug reduces this parameter in 1,6 time in the immobilization, i.e. exhibits a regulatory effect on the level of EPO depending on the degree of erythron damage during stress syndrome initiation. It is supposed that the loss of iron and direct interaction of 3-hydroxypyridine derivative with this mineral in the body may be the key factor for the observed peculiarities.

Key words: 3-hydroxypyridine, mexidol, erythropoietin, stress, blood loss, immobilization

Надійшла: 14.02.2014 р.

Контактна особа: Важничая Олена Митрофанівна, доктор медичних наук, професор, кафедра експериментальної та клінічної фармакології, ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Тел. +38 0 66 634 72 73. Електронна пошта: vazhnichaya@ukr.net

В. І. Сапегін

Вплив L-лізину есцинату на локальний кровообіг у стінці кишечника за умов моделювання інтраабдомінальної гіпертензії

ДУ «Кримський державний медичний університет
імені С. І. Георгієвського», м. Сімферополь

Ключові слова: синдром інтраабдомінальної гіпертензії, кишковий кровообіг, L-лізину есцинат

Синдром інтраабдомінальної гіпертензії (СІАГ) в англomовній літературі відомий як Abdominal Compartment Syndrome – це симптомокомплекс, що розвивається внаслідок підвищення тиску в черевній порожнині та характеризується наступним розвитком поліорганної недостатності (ПОН). Але інтраабдомінальну гіпертензію (ІАГ) слід розглядати окремо, тому що вона не завжди призводить до розвитку ПОН [13]. При цьому, не зважаючи на те, що кишковий кровообіг страждає в першу чергу, СІАГ діагностують переважно на підставі наявності ПОН.

Компресія кишечника веде до порушення мікроциркуляції, гіпоксії та ацидозу, які, у свою чергу, сприяють порушенню проникності мембран із розвитком набряку, трансудації та ексудації рідини. Усе це утворює порочне коло та посилює ІАГ [8, 12]. Тому безпосередня оцінка стану кишкового кровообігу та розробка на її основі хірургічної тактики та післяопераційної фармакотерапії є вкрай актуальною проблемою.

За умов екстравазальної компресії під час ІАГ можливості прояву ефекту судинорозширюючих засобів вкрай обмежені, що спонукає пошук інших шляхів покращання кровопостачання та кисневого балансу тканин кишечника. Один з цих шляхів – запобігання набряку шляхом безпосереднього зменшення проникності мембран. Ураховуючи, що під час ІАГ порушується переважно венозний кровообіг, нашу увагу привернули есцини кінського

каштану, які вже давно та успішно використовуються при захворюваннях вен нижніх кінцівок. Серед них представляє інтерес новий препарат української корпорації «Артеріум» – L-лізину есцинат, який завдяки наявності в молекулі залишку амінокислоти лізину краще за інші проникає крізь тканьові бар'єри [4].

Есцин перешкоджає виникненню ексудативної реакції та зменшує кількість наявного ексудату та вміст у ньому білка та лейкоцитів у відповідь на введення біологічно активних речовин (простагландинів E_1 та E_{21} , гістаміну, серотоніну), екзогенні ураження (опік, ультрафіолетове опромінення, електричну, холодову та механічну травми) [6]. Есцин зменшує вміст АТФ у венозних ендотеліальних клітинах за умов гіпоксії. Це гальмує запальний процес, агрегацію нейтрофілів, ураження вен [9]. Протизапальна та протинабрякова активність есцину показана також за умов експериментального плевриту та перитоніту [15]. Есцин покращує еластичність вен, підвищує венозний тиск [9], а також покращує реологічні властивості крові шляхом протидії виникненню стазу в капілярах, шляхом пригнічення активності гіалуронідази, стимулювання антитромботичної активності сироватки крові, блокуючи пригнічення синтезу антитромбіну клітинами ретикуло-ендотеліальної системи. Крім того, есцин нормалізує рівновагу між внутрішньосудинним тиском та міцністю стінки судин [11].

Мета дослідження – вивчення впливу L-лізину есцинату на порушення локального кишкового кровопостачання за умов моделювання на кролях стандартних рівнів інтраабдомінальної гіпертензії, що послідовно збільшуються.

Матеріали та методи. Досліди проведено на кролях породи шиншила обох статей із урахуванням усіх вимог біоетики. З метою забезпечення стандартизації рівнів ІАГ, що досліджувалися, було застосовано їхнє модювання за допомогою розробленого нами спеціального стенду [5]. Даний стенд являє собою дерев'яний короб з полицею, яка встановлюється на змінній висоті. На цій полиці встановлюється скляна ємність з водою, підфарбованою для зручності спостереження діамантовим зеленим. На задній стінці коробу встановлено вимірювальну лінійку та вертикальну жорстку поліуретанову трубку для вимірювання рівня ІАГ у міліметрах водного стовпа. Склянка та трубка крізь кран та трійник з'єднуються з поліуретановою вимірювальною трубкою та еластичним поліолефіновим контейнером від крапельниці об'ємом 100 мл. Цей контейнер у незаповненому стані разом із вимірювальними електродами під кетаміновим наркозом встановлюється в черевну порожнину кроля. Трубку контейнера та дроти електродів виводять назовні, рану навколо них зашивають. З метою зменшення впливу на кровообіг подальша реєстрація показників здійснюється після припинення дії наркозу.

Для оцінки кровопостачання в стінці кишечника використовували метод кліренсу водню [2]. Насичення тканин воднем здійснювали за допомогою електрохімічного генератора водню «Кенго» шляхом інгаляції 5 % суміші H_2 із повітрям крізь маску нашої конструкції. Оцінку регуляції кровообігу здійснювали шляхом вивчення констрикторної реактивності судин на інгаляцію чистого O_2 (KrO_2) [1, 7]. Крім того вивчали напругу кисню в тканинах методом полярографії [3].

При виконанні всіх перелічених методик використовували однакові електроди. Для вимірювання використовували два електродні блоки, кожен з яких містив по 4 голчатих платинових електродів. Конструкція електродів забезпечує надійну фіксацію кінців електродів у м'язовому шарі кишки та надійну герметизацію місця спаювання платинового дроту з відповідними дротами, а також самих цих дротів від

контакту з біологічними рідинами в операційному полі. Як референтний використовували хлорсрібний електрод, умонтований у білизняну прищипку, яка забезпечує його установку на очеревину в області швів передньої черевної стінки.

Л-лізину есцинат «Артеріум» (Україна) вводили в дозі 0,15 мг/кг в/в у 1 мл ізотонічного розчину натрію хлориду.

Використовували наступний дизайн експерименту. Під кетаміновим наркозом (2 мг/кг в/в) здійснювали розтин черевної порожнини. Електродні блоки пришивали до стінки кишечника чотирма круговими вікриловими швами крізь спеціальні прорізи в корпусі електродного блока – по одному шву між кожною парою електродів. Це забезпечувало проколювання кінцями електродів серозної оболонки та щільну фіксацію їх у гладьком'язовому шарі кишечника. Таке розташування електродів дозволяло реєструвати показники локально – у безпосередній близькості від кінців електродів. Після фіксації електродів у черевну порожнину вводили еластичний контейнер від стенду для моделювання стандартних рівнів ІАГ, розташовуючи його впродовж передньої стінки живота. Трубку та кабелі електродних блоків виводили назовні між швів передньої стінки живота, між якими лишали ще невеличкий просвіт для фіксації хлорсрібного електрода. Кроля лишали зафіксованим на столі протягом усього експерименту. Після виходу з наркозу та півгодинного дрейфу залишкового струму реєстрували контрольні показники для поточного експерименту щодо яких підраховували подальші відносні зміни цих показників у $\pm$ % під впливом моделі патології та дії L-лізину есцинату за формулою (1).

$$\Delta = \left(\frac{X}{X_0} - 1 \right) \cdot 100 \%, \quad (1)$$

Δ – зміни величини, що вивчалася в $\pm$ % до контролю;

X – значення показника в даний момент часу;

X_0 – контрольне значення показника в даному експерименті.

Наступні дії залежали від серії експериментів. У першій серії дослідів не вводили жодних препаратів, у другій – вводили L-лізину есцинат. Подальші дії були однакові в обох серіях та полягали в моделюванні першого стандартного рівня ІАГ. Через півгодини реєстрували показники для цього рівня ІАГ. Далі аналогічно для наступного рівня ІАГ. Вимірювання здійснювали при стандартних рівнях 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 мм водного стовпа – послідовно в одному експерименті. Ці рівні перекривають діапазон ІАГ, що відповідає всім наявним у літературі класифікаціям. Нині відомі класифікації за J. M. Burch [10, 14] та більш нова (II Всесвітній конгрес з СІАГ, Noosa, Australia, 6-8 грудня 2004) (табл. 1).

Достовірність розбіжностей між дослідними та вихідними величинами всередині серій оцінювали за непараметричним Т-критерієм Уїлкоксона для залежних виборок (P_1). Достовірність розбіжності між серіями без використання препаратів та на тлі дії L-лізину есцинату при однакових рівнях ІАГ оцінювали за критерієм Ст'юдента (P_2). Усі етапи математичної обробки проводили у середовищі електронних таблиць Lotus 1-2-3 for OS/2.

Результати та їх обговорення. Динаміку показників кровопостачання наведено в таблиці 2. Ступені ІАГ відмічено за класифікацією II Всесвітнього конгресу з СІАГ. Таким чином, локальний кишечний кровотік (КТ), уже починаючи з першого модельованого рівня ІАГ, достовірно знижується (табл. 2). До рівня 150 мм водного стовпа, тобто до початку першого ступеня ІАГ, його зниження відбувається швидко, далі зниження уповільнюється. Це свідчить

про те, що до початку першого ступеня ІАГ екстравазальна компресія кишечних судин призводить майже до максимально можливого здавлення судин.

L-лізину есцинат зменшує уповільнення КТ до ІАГ 150 мм в.с., викликаючи його незначне абсолютне прискорення при 50 мм в.с. (табл. 2). Але при ІАГ 200 мм в.с. та більше препарат додатково уповільнює кровотік. Цей ефект можна пояснити венотонічною дією препарату, яка при ІАГ менше за 150 мм в.с. сприяє зростанню перфузійного тиску в судинах кишечника та прискоренню КТ. Але при подальшому зростанні екстравазальної компресії венотонічний ефект L-лізину есцинату сприяє додатковому погіршенню перфузії.

Стан кровопостачання характеризується не лише об'ємною швидкістю кровотоку, а й кисневим балансом тканин. За нашими даними, зниження pO_2 у тканинах спостерігається за всіх модельованих рівнів ІАГ, але найбільше гіпоксія прогресує між 100 та 250 мм водного стовпа, тобто за 1–2 ступенів ІАГ (табл. 2). Після цього наростання гіпоксії дещо уповільнюється. Одночасно зі зростанням гіпоксії ще стрімкіше пригнічуються констрикторні реакції судин (KpO_2). Зменшення KpO_2 пояснюється не лише пригніченням скорочувальної активності гладеньких м'язів судин. Це можна пояснити зниженням енергозабезпечення м'язового скорочення внаслідок гіпоксії. Отже, з ІАГ 100 мм в.с. прискорюється гіпоксія та порушення регуляції тону судин, у той час, як зменшення КТ уповільнюється. При 200–250 мм в.с. зменшення всіх показників уповільнюється, що є прогностично несприятливою ознакою початку загибелі тканин.

Таблиця 1

Класифікації ступенів ІАГ

Ступінь ІАГ	ІАГ, мм ртутного (водного) стовпа			
	За J. M. Burch		За рішенням II Всесвітнього конгресу з СІАГ	
	мм Hg	мм H ₂ O	мм Hg	мм H ₂ O
1	10–15	136–204	12–15	163–204
2	16–25	204–340	16–20	218–271
3	26–35	340–476	21–25	285–340
4	35 та вище	476 та вище	25 та вище	340 та вище

Показники кровообігу в стінці кишечника за моделювання інтраабдомінальної гіпертензії та дії L-лізину есцинату, % до вихідної величини, n = 12

Показник	Умови досліджу	Статистичний показник	Моделювані стандартні рівні ІАГ, мм водного стовпа						
			50 мм	100 мм	150 мм	200 мм	250 мм	300 мм	350 мм
			Зміни показника, ± % до вихідної величини, прийнятої за 0 %						
КТ	ІАГ	M	- 7,39	- 14,44	- 18,80	- 19,80	- 23,20	- 25,86	- 26,79
		± m	0,76	0,96	0,93	0,88	0,99	0,96	0,75
		P	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	ІАГ + L	M	+ 3,23	- 1,52	- 11,41	- 23,42	- 31,34	- 35,12	- 39,14
		± m	0,80	1,13	0,62	0,59	0,66	0,62	0,64
		P ₁	< 0,01	> 0,25	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
		P ₂	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	рО ₂	M	- 7,94	- 11,82	- 19,94	- 26,44	- 30,94	- 32,85	- 34,86
		± m	0,32	0,40	0,44	0,60	0,72	0,76	0,83
		P	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
КрО ₂	ІАГ	M	-29,49	-35,94	-62,38	-114,66	-122,18	-125,89	-132,82
		± m	3,07	2,58	3,59	5,21	5,72	8,05	5,72
		P	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
	ІАГ + L	M	+ 7,76	- 3,92	- 20,59	- 47,88	- 60,86	- 71,76	- 75,51
		± m	1,47	1,44	1,01	0,77	1,60	1,06	0,95
		P ₁	< 0,01	< 0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
		P ₂	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Примітка. P₁ – імовірність відмінності порівняно з вихідною величиною;

P₂ – імовірність відмінності між серіями (ІАГ і ІАГ + L); L – лізину есцинату.

L-лізину есцинат перешкоджає зниженню рО₂ за всіх модельованих рівнів ІАГ, викликаючи його незначне абсолютне зростання при 50 мм в.с. (табл. 2). При цьому його протекторний ефект поступово зменшується зі зростанням ІАГ. Той факт, що, на відміну від КТ не спостерігається додаткового зниження показника при 200 мм в.с. та більше, свідчить про те, що в антигіпоксичному ефекті препарату має значення не тільки венотонічний ефект та прискорення КТ, але й ангіопротекторна дія, яка веде до покращання транскапілярного обміну, а також, можливо, і протинабрякова (табл. 2). Зниження КрО₂ під впливом L-лізину есцинату попереджується ще більш суттєво, а рівень захистного ефекту по мірі

росту ІАГ не зменшується, а навіть зростає (табл. 2). Причиною цього явища крім кращого енергозабезпечення м'язового скорочення слід вважати венотонічний ефект препарату, а також, можливо, напруження міогенної регуляції тону судин у результаті подразнення механорецепторів гладеньких м'язів судин за рахунок екстравазальної компресії. Останнє може бути однією з причин додаткового уповільнення КТ при ІАГ від 200 мм в.с. та більше.

Таким чином, ще до першого ступеня ІАГ (до 100 мм водного стовпа) кровопостачання кишечника суттєво зменшується, але зміни всіх параметрів кровообігу відбуваються синхронно під впливом, переважно, екстравазальної

компресії, і ніяких незворотних змін ще не відбувається. 1–2 ступені ІАГ характеризуються зворотним гіпоксичним пошкодженням тканин. Третій та четвертий ступені можна розцінювати як прогностично несприятливі щодо подальшого виживання кишечника.

Л-лізину есцинат за рахунок вено-tonічної дії достатньо ефективно перешкоджає уповільненню КТ до рівня ІАГ 150 мм в.с. Причиною цього слід уважати зростання перфузійного тиску, тобто тиску в артеріях та капілярах унаслідок підвищення опору на виході. Але з підвищенням екстравазальної компресії зростання венозного опору сприяє подальшому погіршенню кровообігу. У зв'язку з цим при ІАГ 200 мм в.с. та вище Л-лізину есцинат не може бути рекомендованим, але при таких рівнях ІАГ обійтися без декомпресії взагалі неможливо.

На відміну від КТ, який на фоні дії Л-лізину есцинату покращується лише до 150 мм в.с., захисна дія щодо pO_2 та CrO_2 при його введенні лишається

достатньо вираженою за всіх досліджених рівнів ІАГ. Це є свідченням того, що в антигіпоксичній дії препарату ангіопротекторний та протинабряковий компоненти відіграють важливішу роль, ніж гемодинамічний.

Висновки

1. За всіх модельованих рівнів інтраабдомінальної гіпертензії виникає уповільнення локального кишкового кровотоку, пригнічення констрикторної реактивності судин та зниження напруги кисню в тканинах.

2. Швидкість вищевказаних зрушень має певні фази, співвідношення яких свідчить про розвиток зворотного ішемічного пошкодження тканин за 1–2 ступенів інтраабдомінальної гіпертензії та розвиток прогностично несприятливих зрушень щодо подальшого виживання кишечника за 3–4 ступенів.

3. Л-лізину есцинат може бути рекомендований для включення в комплекс консервативної терапії інтраабдомінальної гіпертензії 1 ступеня.

1. Бекетов А. И. Экспериментальное (доклиническое) изучение фармакологических средств, влияющих на мозговое кровообращение: методические рекомендации / А. И. Бекетов, И. Д. Сапегин, И. В. Полевик. – К. : «Авиценна», 2002. – 33 с.
2. Демченко И. Т. Измерение органного кровотока с помощью водородного клиренса / Демченко И. Т. // Физиол. ж. СССР. – 1981. – Т. 67, № 1. – С. 178–183.
3. Коваленко Е. А. Полярнографическое определение кислорода в организме / Коваленко Е. А., Березовский В. А., Эпштейн И. М. : Медицина, 1975. – 231 с.
4. Л-лизина есцинат: препарат который спасает жизнь... // Провизор. – 2002. – № 12. – С. 26–27.
5. Сапегін В. І. Визначення безпечних для кишечника рівнів інтраабдомінальної гіпертензії з позицій збереження регуляції локального кровообігу / В. І. Сапегін, Ф. М. Ільченко, І. Д. Сапегін // Клінічна хірургія. – 2014. – № 3. – С. 56–59.
6. Спасиченко П. В. Эсцинат лизина новый отечественный препарат для лечения отека мозга при острой черепно-мозговой травме / П. В. Спасиченко, Л. А. Чайка // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія: Матеріали ІІІ Національного конгресу анестезіологів України. – 2000. – С. 14–149.
7. Чемоданов Е. Б. Критерии выбора уровня резекции при моделировании острой кишечной непроходимости по состоянию микроциркуляции / Е. Б. Чемоданов, И. Д. Сапегин // Медицина сегодня и завтра. – 2004. – № 4. – С. 115–118.
8. Cardiovascular responses to elevation of intra-abdominal hydrostatic pressure / Barnes G. E., Laine G. A., Giam P. Y. [et al.] // Am. J. Physiol. – 1988. – № 248. – P. 208–213.
9. Effect of aescine on hypoxia-induced neutrophil adherence to umbilical vein endothelium / Bogelet C., Roland IH, Ninane N. et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 1998. – V. 345, № 1. – P. 95.
10. The abdominal compartment syndrome / [Burch J. M., Moore E. E., Moore F. A., Franciose R.] // Surg. Clin. North. Am. – 1996. – V. 76, № 4. – P. 833–842.
11. Calabrese C. Report of the results of a double-blind, randomized, single-dose trial of a topical 2 % escin gel versus placebo in the acute treatment of experimentally-induced hematoma in volunteers / C. Calabrese, P. Preston // Planta Med. – 1993. – V. 59, № 5. – P. 394–396.
12. Caldwell C. B. Changes in visceral blood flow with elevated intra-abdominal pressure / C. B. Caldwell, J. J. Ricotta // J. Surg. Research. – 1987. – № 43. – P. 14–20.
13. Howdieshell T. R. Abdominal compartment syndrome / T. R. Howdieshell, R. Watson // South. Med. J. – 1998. – V. 91, № 4. – P. 326–332.
14. Hunter J. D. Intra-abdominal hypertension and the abdominal compartment syndrome / J. D. Hunter, Z. Damani // Anaesthesia. – 2004. – № 59. – P. 899–907.
15. Rothkopf M. New findings on the efficacy and mode of action of the horse chestnut saponin escin / M. Rothkopf, G. Vogel // Arzneimittelforschung. – 1976. – V. 26, № 2. – P. 225–235.

В. І. Сапегін**Вплив L-лізину есцинату на локальний кровообіг в стінці кишечника за умов моделювання інтраабдомінальної гіпертензії**

В гострих експериментах на кролях вивчено захисну дію L-лізину есцинату (0,15 мг/кг в/в одноразово) на зміни кровообігу, його регуляції та кисневого балансу в тканинах кишечника при послідовному моделюванні стандартних рівнів інтраабдомінальної гіпертензії (ІАГ) – 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 мм водного стовпа за допомогою стенду нашої конструкції. На тлі вказаних рівнів ІАГ вивчено локальний кровотік (КТ), констрикторну (KrO_2) реактивність судин методом клиренсу водню, а також напругу кисню в тканинах (pO_2) стінки кишечника методом полярографії за допомогою спеціальних електродних блоків. За всіх модельованих рівнів ІАГ відбувається уповільнення КТ, пригнічення KrO_2 , а також зниження pO_2 у тканинах. Зіставлення швидкості розвитку вказаних зрушень свідчить про розвиток оборотного ішемічного ураження за 1–2 ступенів синдрому інтраабдомінальної гіпертензії, а при 3–4 ступенях – про прогностично несприятливі зміни, що ставлять під сумнів подальше виживання кишечника. L-лізину есцинат перешкоджає уповільненню КТ до ІАГ 150 мм в.с., але при більших рівнях тиску додатково його уповільнює. Щодо pO_2 і KrO_2 , то захистна дія виражена за усіх досліджених рівнів ІАГ. Тому L-лізину есцинат може бути рекомендованим хворим на ІАГ до 200 мм в.с.

Ключові слова: синдром інтраабдомінальної гіпертензії, кишковий кровообіг, L-лізину есцинат

В. И. Сапегин**Влияние L-лизина эсцината на локальное кровообращение в стенке кишечника в условиях моделирования интраабдоминальной гипертензии**

В острых экспериментах на кроликах изучено защитное действие L-лизина эсцината (0,15 мг/кг в/в однократно) на изменения кровообращения, его регуляции и кислородного баланса в тканях кишечника при последовательном моделировании стандартных уровней интраабдоминальной гипертензии (ИАГ) – 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 мм водного столба с помощью стенда нашей конструкции. На фоне указанных уровней ИАГ изучены локальный кровоток (КТ), констрикторная (KrO_2) реактивность сосудов методом клиренса водорода, а также напряжение кислорода в тканях (pO_2) стенки кишечника методом полярографии с помощью специальных электродных блоков. При всех моделируемых уровнях ИАГ происходит замедление КТ, угнетение KrO_2 , а также снижение pO_2 в тканях. Сопоставление скорости развития указанных сдвигов свидетельствует о развитии обратимого ишемического повреждения при 1–2 степенях синдрома интраабдоминальной гипертензии, а при 3–4 степенях – о прогностически неблагоприятных изменениях, ставящих под сомнение дальнейшее выживание кишечника. L-лизина эсцинат препятствует замедлению КТ до ИАГ 150 мм в.с., но при больших уровнях давления дополнительно его замедляет. В отношении pO_2 и KrO_2 защитное действие выражено при всех исследованных уровнях ИАГ. Поэтому L-лизина эсцинат может быть рекомендован больным с ИАГ до 200 мм в.с.

Ключевые слова: синдром интраабдоминальной гипертензии, кишечное кровообращение, L-лизина эсцинат

V. I. Sapegin**L-lysine escinate influence on local blood circulation in the intestinal wall under intraabdominal hypertension modeling**

In acute experiments on rabbits with modeling by our designed stand of sequential increasing standard levels of intra-abdominal hypertension (IAH) – 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 mm H_2O the protective effect L-lysine escinate (0,15 mg/kg / single dose) upon the changes in blood circulation, its regulation and oxygen balance in the intestinal tissues were studied. The local blood flow (BF), constriction (KrO_2) vascular reactivity by hydrogen clearance method and tissue oxygen tension (pO_2) in the intestinal wall tissues by polarographic method using special own designed electrode units on the background of these IAH levels were studied. Under the influence of simulated IAH levels slowing of BF, oppression of KrO_2 , and reduction of pO_2 in tissues is observed. Comparison of the rate of development of this shift suggests the development of reversible ischemic injury at 1–2 degree of abdominal compartment syndrome, and at 3–4 degree about prognostically unfavorable changes questioning the continued survival of the intestine. L-lysine escinate prevents slowdown of BF at IAH less than 150 mm H_2O , but at higher levels of pressure it slows BF further. With respect to decreasing pO_2 and KrO_2 protective effect is expressed at all investigated levels of IAH. Therefore, L-lysine escinate can be recommended to patients with IAH to 200 mm H_2O .

Key words: abdominal compartment syndrome, intestinal blood circulation, L-Lysine escinate

Надійшла: 29.01.2014 р.

Контактна особа: Сапегін Ведеслав Ігорович, аспірант, кафедра хірургії № 2, ДУ «Кримський державний медичний університет імені С. І. Георгієвського МОЗ України», буд. 5/7, бульв. Леніна, м. Сімферополь, 95006. Тел.: + 38 050 502 58 66.
Електронна пошта: vedes@mail.ru vedes84@gmail.com

Експериментальне вивчення противиразкової активності трави деяких видів роду *Salvia L.* на моделі спиртово-преднізолонової виразки шлунка в щурів

¹ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

²Національний ботанічний сад імені М. М. Гришка НАН України, м. Київ

Ключові слова: виразка шлунка, шавлія кільчаста, шавлія відхилена, шавлія лікарська, противиразкова активність, спиртово-преднізолонова модель

Відомо, що виразкові ураження шлунково-кишкового тракту, зокрема, виразкова хвороба шлунка та виразкові ураження кишечника (коліти, проктити), є одними з найпоширеніших гастроентерологічних захворювань [1, 2]. Актуальним та патогенетично виправданим є застосування при виразковій хворобі препаратів рослинного походження, оскільки вони відрізняються комплексною фармакодинамікою та високою безпечністю [3–6].

Мета дослідження – експериментальне вивчення противиразкової активності сухих екстрактів трав шавлії відхиленої (*S. patens L.*), шавлії кільчастої (*S. verticillata L.*) та шавлії лікарської (*S. officinalis L.*) при ураженні шлунка, спричиненому спиртово-преднізолоновою сумішшю [7], та порівняльний аналіз одержаних результатів.

Матеріали та методи. Для дослідження використовували сухі екстракти трав шавлії відхиленої, шавлії кільчастої та шавлії лікарської, які були зібрані у фазу масового цвітіння в червні 2012 року в Національному ботанічному саду імені М. М. Гришка (м. Київ).

Як препарат порівняння було використано екстракт трави шавлії лікарської (*S. officinalis L.*), який проявляє противиразкову активність [8].

Для експерименту з ПП «Біомодель-сервіс» було відібрано 25 безпородних білих щурів-самців вагою 180–200 г. Усього в експерименті було використано 5 груп щурів по 5 тварин у кожній:

1 група – інтактні тварини, 2 група – контроль (модель виразки шлунка), 3 група – тварини з ураженням слизової оболонки шлунка, яким вводили екстракт трави шавлії лікарської в дозі 100 мг/кг маси тіла, 4 група – тварини з ураженням слизової оболонки шлунка, яким вводили екстракт трави шавлії відхиленої в дозі 100 мг/кг маси тіла, 5 група – тварини з ураженням слизової оболонки шлунка, яким вводили екстракт трави шавлії кільчастої в дозі 100 мг/кг маси тіла.

Спиртово-преднізолонову суміш (преднізолон у дозі 20 мг/кг маси тіла та спирт етиловий (80 % з розрахунку 0,6 мл на 100 г маси криси) вводили внутрішньошлунково одноразово білим щурам, які за 24 год до цього голодували з вільним доступом до води [7].

Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувалися міжнародних вимог «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних і інших наукових цілях» (м. Страсбург, 1986 р.) та методичних рекомендацій Державного експертного центру МОЗ України «Доклінічні дослідження лікарських засобів» [7, 9].

Досліджувані сухі екстракти трав шавлії відхиленої, шавлії кільчастої та шавлії лікарської у вигляді суспензії вводили внутрішньошлунково 1 раз на добу в лікувально-профілактичному режимі: щодня одноразово протягом 3 днів до моделювання патології, у день введення спиртово-преднізолонової суміші та наступного дня наприкінці експерименту.

Як розчинник використовували дистильовану воду. Через 24 год після

моделювання виразки тварин виводили з експерименту, вилучали шлунки та проводили їхнє макроскопічне та мікроскопічне дослідження. Оцінку інтенсивності виразкового ураження та противиразкової активності досліджуваних екстрактів проводили за показниками інтенсивності утворення виразкових дефектів: відсоток тварин з виразками в групі, середній ступінь важкості виразки (СВВ), індекс Паулса (ІП).

Ступінь важкості виразки відображає ступінь ураження слизової оболонки шлунка експериментальних тварин залежно від площі виразки (ступеня дистрофічних порушень шлунка), зазвичай оцінюється в балах, зокрема: 0 – відсутність видимих ушкоджень; 1 – наявність набряку чи крововиливів, 1–3 невеликі виразки; 2 – декілька (більше 3) невеликих виразок або 1 виразка значних розмірів; 3 – виразка значних розмірів (діаметр до 4 мм); 4 – декілька великих виразок; 5 – проривна виразка.

Індекс Паулса (ІП) розраховували як інтегральний показник кількості деструкцій за формулою:

$$\text{ІП} = \frac{\text{Середня кількість виразок} \cdot \% \text{ тварин з виразками}}{100 \%}$$

Противиразкову активність (ПА) досліджуваних екстрактів визначали як відношення індексу Паулса в контрольній групі до індексу Паулса в дослідній групі. Результати дослідження обробляли із застосуванням статистичного пакета програми «STATISTICA® for Windows 7.0» (StatSoft Inc.) за критерієм t-Ст'юдента, з поправкою Бонфероні за відсутності нормального розподілу. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при рівнях значущості менше 0,05.

Результати та їх обговорення. У результаті проведених досліджень визначена противиразкова активність екстрактів трав шавлії кільчастої, шавлії відхиленої та шавлії лікарської.

Дослідження шлунка експериментальних тварин показали наступні результати: зокрема, при макроскопічному дослідженні шлунка тварин з модельною патологією (контрольна

група) встановлено, що слизова оболонка переважно блідо-рожевого кольору, місцями з білими плямами, складчастість слизової виражена помірно. При мікроскопічному дослідженні слизової оболонки виявлені осередки гіперемії. У дні шлунка присутні ділянки, де слизова оболонка набрякла, кровоносні судини розширені й повнокровні, наявні крововиливи, різні за площею й глибиною виразки. Наявність виразкових дефектів відмічали в 100 % тварин. Середня площа виразок становила $1,60 \pm 1,12$ бала, виразковий індекс склав $1,60 \pm 1,12$.

Подібну макроскопічну та мікроскопічну картину спостерігали й у групі тварин, яких лікували сухим екстрактом шавлії кільчастої (*S. Verticillata*), зокрема, на розтині слизова оболонка шлунка тварин блідо-рожевого кольору, складчастість виражена помірно. Разом з тим, у слизовій оболонці дна шлунка в області малої кривизни на поверхні складок ерозії зустрічалися частіше, а також місцями в фундальному відділі виявлялися розширені й повнокровні капіляри. Наявність виразкових дефектів відмічали в 100 % тварин. Середня площа виразок становила $1,20 \pm 0,56$ бала, виразковий індекс склав $1,20 \pm 0,56$, а противиразкова активність склала 1,33.

У групі тварин, яких лікували сухим екстрактом шавлії відхиленої (*S. patens* L.), спостерігалася значно менша кількість виразкоутворень порівняно з групою тварин, яких лікували сухим екстрактом шавлії кільчастої.

При макроскопічному дослідженні шлунка тварин встановлено, що слизова оболонка блідо-рожевого кольору, складчастість виражена помірно. Візуально в слизовій оболонці шлунка патологічних змін не виявлено. При мікроскопічному дослідженні слизової оболонки ерозій у шлунку практично не виявлено, лише на поверхні складок визначалися невеликі ерозії невизначеної форми, також не було виявлено і гемодинамічних порушень. У цій групі тварин виразки були знайдені в 40 % тварин, середня площа виразок становила $0,80 \pm 1,38$ бала, виразковий індекс складав $0,32 \pm 0,55$, а противиразкова активність дорівнювала 5.

**Противираzkова активність сухих екстрактів трави шавлії відхиленої,
шавлії кільчастої та шавлії лікарської**

Експериментальна група	Кількість тварин з виразками в групі, %	Ступінь виразки (СВ), бал	Індекс Паулса (ІП)	Противираzkова активність (ПА)
Інтактні тварини	–	–	–	–
Контроль (патологія)	100 (5/5)	$1,60 \pm 1,12$	$1,60 \pm 1,12$	-
Екстракт шавлії лікарської, 100 мг/кг	40 (2/5)	$0,40 \pm 0,69$	$0,16 \pm 0,28^*$	10
Екстракт шавлії відхиленої, 100 мг/кг	40 (2/5)	$0,80 \pm 1,38$	$0,32 \pm 0,55^*$	5
Екстракт шавлії кільчастої, 100 мг/кг	100 (5/5)	$1,20 \pm 0,56$	$1,20 \pm 0,56$	1,33

Примітка. *Достовірно відносно контролю ($p \leq 0,05$).

Уведення препарату порівняння шавлії лікарської (*S. officinalis* L.) зумовило зменшення вираженості перебігу виразкового процесу, спостерігали значно меншу кількість виразкоутворень порівняно з макроскопічною картиною шлунків тварин, яким вводили сухий екстракт *S. patens* L. Встановлено, що слизова – блідо-рожева, складчастість виражена помірно. Візуально патологічних змін слизової оболонки не визначено. При мікроскопічному дослідженні зустрічалися дрібні виразки, гемодинамічні порушення були відсутні. У цій групі тварин виразки були знайдені в 40 % тварин, середня площа виразок становила $0,40 \pm 0,69$ бала, виразковий індекс складав $0,16 \pm 0,28$, а противираzkова активність – 10.

На моделі ураження слизової оболонки шлунка введення водних розчинів сухих екстрактів трав шавлії лікарської та шавлії відхиленої сприяло зниженню середнього ступеня виразки (СВ). Під дією досліджуваних екстрактів даний показник знизився в 4 і 2 рази відповідно (таблиця). Противираzkова активність при застосуванні екстракту трави шавлії лікарської (*S. officinalis* L.) дорівнювала 10 та екстракту трави шавлії відхиленої (*S. patens* L.) – 5. Показники інтенсив-

ності виразкового ураження при застосуванні екстракту трави шавлії кільчастої (*S. verticillata* L.) практично не відрізнялися від результатів контрольної групи, що свідчить про низьку противираzkову дію або її відсутність в екстрактах трави *S. verticillata* L.

Таким чином, проведені дослідження показали, що сухий екстракт трави шавлії відхиленої (*S. patens* L.) у дозі 100 мг/кг проявляє противираzkову активність і запобігає утворенню виразок, викликаних спиртово-преднізолоновою сумішшю, хоча й поступається за ефективністю сухому екстракту трави шавлії лікарської (*S. officinalis* L.).

Висновки

На моделі спиртово-преднізолонової виразки шлунка в щурів досліджено противираzkову активність сухих екстрактів трави шавлії відхиленої та шавлії кільчастої. Встановлено наявність противираzkової активності сухого екстракту трави шавлії відхиленої (*S. patens* L.), який за умов триразового перорального введення щурам у дозі 100 мг/кг запобігає утворенню виразок, викликаних спиртово-преднізолоновою сумішшю, хоча і поступається за ефективністю сухому екстракту трави шавлії лікарської (*S. officinalis* L.).

1. Морозов В. П., Перельгін В. Г., Савранський В. М., Шабуневич Л. В. // Клиническая медицина. – 1992. – Т. 10, № 2. – С. 75–77.
2. Оболенцева Г. В. Методичні рекомендації з експериментального вивчення нових противираzkових препаратів / Оболенцева Г. В., Яковлева Л. В., Брюзгінова Л. П. – К. : Фармакологічний комітет МОЗ України, 1995. – 16 с.
3. Кьосев П. А. Полный справочник лекарственных растений / П. А. Кьосев. – М. : «Эксмо-Пресс», 2004. – 992 с.

4. Куркин В. А. Фитотерапия гастрита и язвенной болезни / В. А. Куркин // Российские аптеки. – 2006. – № 6. – С. 12–14.
5. Формазюк В. И. Энциклопедия пищевых лекарственных растений: Культурные и дикорастущие растения в практической медицине / В. И. Формазюк. – К. : АСК, 2003. – 792 с.
6. Яицкий Н. А. Язвы желудка и двенадцатиперстной кишки / Н. А. Яицкий, В. М. Седов, В. П. Морозов. – М. : Медпресс-информ, 2002. – 70 с.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації): за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіцена. – 2001. – 528 с.
8. Antiulcerogenic potential of *Salvia officinalis* L. extract in rats / T. R. Fiorentin, M. B. De Mello, A. M. Krube Aquino [et al.] // Journal of Applied Pharmaceutical Science. – 2013. – V. 3 (08). – P. 032–035.
9. European convention for the protection of the vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.

О. М. Семенченко, А. А. Цуркан, О. А. Кораблева, А. В. Бурмака
Экспериментальное изучение противоязвенной активности травы
некоторых видов рода *Salvia* L. на модели спиртово-преднизолоновой язвы
желудка у крыс

Проведено изучение противоязвенной активности растительных экстрактов травы шалфея мутноватого, шалфея отклоненного и шалфея лекарственного с использованием *in vivo* экспериментальной спиртово-преднизолоновой модели язвы желудка у крыс.

Показано, что экстракт травы шалфея отклоненного предотвращает образование язв, вызванных спиртово-преднизолоновой смесью, но уступает по эффективности экстракту травы шалфея лекарственного. Полученные данные аргументируют целесообразность дальнейшего изучения экстракта травы шалфея отклоненного, обладающего противоязвенной активностью, как средства комплексной терапии и профилактики гастропатий.

Экстракт травы шалфея мутноватого (*Salvia verticillata* L.) не обладает противоязвенной активностью.

Ключевые слова: язва желудка, шалфей мутноватый, шалфей отклоненный, шалфей лекарственный, противоязвенная активность, спиртово-преднизолоновая модель

О. М. Semenchenko, A. A. Tsurkan, O. A. Korableva, A. V. Burmaka
The experimental study of anti-ulcer activity of herbs of some of the genus *Salvia*
at the experimental alcohol-prednisolone model of gastric ulcer in rats

Peptic ulcer is one of the most common gastrointestinal disease in clinical practice. The actual problem in treatment of ulcer is the prolonged use of synthetic anti-ulcer drugs, which is led to adverse drug reactions. The goal of this study was to find a new anti-ulcer agents that retain therapeutic efficacy but escape of adverse drug reactions.

Salvia officinalis L. is a medicinal plant popularly used as an anti-ulcer medicine. A study of the efficacy of some herbal extracts of *Salvia* L. in gastric ulcer with alcohol-prednisolone induced ulcer was undertaken in a rat model. The herbal extracts of *Salvia verticillata* L., *Salvia patens* L. and *Salvia officinalis* L. were tested for its *in vivo* gastric anti-ulcer property using alcohol-prednisolone model.

25 outbred white male rats weighing 180-200 g were randomized into 5 groups, each group includes five animals. The 1 group – intact animals, 2 group – control (model of gastric ulcers), 3 group – animals with the gastric ulcer, which was received the herbal extract of *Salvia officinalis* L. in dose of 100 mg/kg of mass of body, 4 group – animals with the gastric ulcer, which was received the herbal extract of *Salvia patens* L. in dose of 100 mg/kg of mass of body, 5 group – was administered the herbal extract of *Salvia verticillata* L. in dose of 100 mg/kg. Studied herbal extracts were administered intragastrically 1 per day: once daily for 3 days prior to modeling disease, in day of administration of mixture and the next day at the end of the experiment. The distilled water was used as diluent. Within 24 hours after simulation ulcers animals taken out of the experiment in terms of euthanasia, stomachs removed and carried their macroscopic and microscopic examination.

The anti-ulcer activity of herbal extract of *Salvia patens* L. was evaluated for its antiulcer activity against the alcohol-prednisolone induced gastric ulcer model. For the herbal extract of *Salvia patens* L. the anti-ulcer activity was determined at first time. The herbal extract of *Salvia patens* L. was significantly less efficiency than herbal extract of *Salvia officinalis* L. The herbal extract of *Salvia verticillata* L. does not show anti-ulcer activity.

Key words: gastric ulcer, *Salvia verticillata* L., *Salvia patens* L., *Salvia officinalis* L., antiulcer activity, alcohol-prednisolone model

Надійшла: 14.10.2013 р.

Контактна особа: Семенченко Ольга Михайлівна, здобувач, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Єжена Потье, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 66 209 02 61. Електронна пошта: o.m.semenchenko@gmail.com

О. Ю. Тозюк, Г. І. Степанюк

Порівняльна оцінка впливу натрію 2-(тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)-ацетату та бемітилу на процес відновлення фізичної працездатності щурів

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

Ключові слова: натрію 2-(тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)-ацетат, бемітил, фізична працездатність, процес відновлення

Виконання будь-якого виду роботи неодмінно призводить до стомлення – сукупності тимчасових змін у фізичному й психічному стані людини, що розвиваються в результаті діяльності та призводять до зниження її кількісних та якісних показників (психофізіологічна ознака), виникнення суб'єктивного відчуття втоми, яке є її психологічним критерієм. Стомлення характеризується погіршенням функціонування організму на різних рівнях (молекулярному, клітинному, органному, системному), результатом якого є порушення гомеостазу [1, 5]. Швидкість розвитку стомлення визначає витривалість організму й характеризує психічне та фізичне здоров'я людини. Проте слід також зазначити, що даний процес може розвиватися не лише при тривалому виконанні виснажливих фізичних навантажень, але й при роботі помірної інтенсивності в ускладнених умовах (незвичайний температурний режим, шум, гравітація), або на фоні різних захворювань. Разом з цим, стомлення носить захисний характер, оскільки запобігає повному виснаженню організму шляхом економізації всіх процесів та збереженню фізіологічних резервів [2, 8].

Тривалі виснажливі фізичні навантаження без повноцінного відпочинку, який сприяє стабілізації гомеостазу та відновленню енергоресурсів, призводять до перевтоми. У той час, коли стомлення розглядають як фізіологічний процес, перевтома є станом організму на межі патології. Тому корекція

фізичної працездатності та процесу відновлення функціонального стану організму з метою попередження виникнення патологічного процесу в організмі людини є актуальним завданням медицини та, зокрема, фармакології [1, 4, 9].

Відтермінувати настання стомлення при виконанні інтенсивних фізичних навантажень або при роботі в ускладнених умовах (гіподинамія, екстремальні температури, гіпоксія та ін.), а також пришвидшити процеси відновлення можливо, використовуючи актопротекторні засоби. Препарати цієї групи мають невиснажуючий тип дії, що дозволяє економізувати енергетичні процеси в організмі. Актопротектори широко використовують у загальномедичній практиці, військовій та спортивній медицині [3, 9, 10]. Проте дана група препаратів сьогодні представлена практично одним бемітилом. До того ж він не завжди задовольняє клініцистів, оскільки має ряд побічних реакцій (гастралгії, гіперемія обличчя, надлишкова психостимулююча активність) [3, 10]. Саме це зумовлює необхідність пошуку високоєфективних речовин з актопротекторною активністю, придатних для створення на їхній основі нових лікарських засобів із вказаною дією.

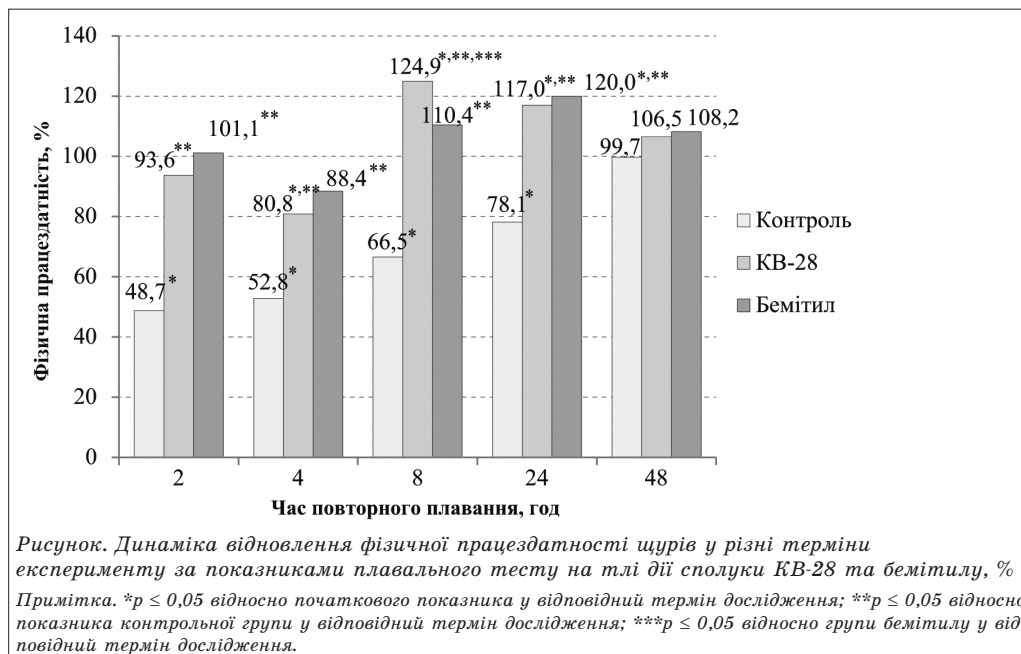
У попередніх дослідженнях нами встановлено, що натрію 2-(тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)-ацетат (сполука KB-28) має виразний актопротекторний ефект у звичайних та ускладнених (гіпо- та гіпертермія, гіпокінезія, циркуляторна та гемічна гіпоксії) умовах експерименту [6, 7]. Це вказує на перспективність дослідження цієї сполуки на предмет придатності для створення нового засобу з вказаною дією. Для більш детального вивчення власти-

востей сполуки KB-28 було важливо дослідити її вплив на процес відновлення працездатності організму при фізичних навантаженнях.

Мета дослідження – дати порівняльну оцінку впливу натрію 2-(тетразоло[1,5-с]хіназолін-5-ілтіо)-ацетату (сполуки KB-28) та бемітилу на процес відновлення фізичної витривалості щурів після субмаксимального фізичного навантаження.

Матеріали та методи. Експерименти виконано на 105 нелінійних білих щурах-самцях масою 180–200 г, яких утримували на стандартному водно-харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі за природної зміни дня та ночі. Усі дослідження проводили з дотриманням вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних або інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.). Відновлення фізичної працездатності щурів оцінювали на моделі повторного плавання у воді 24–26 °С з додатковим 10 % навантаженням. При первинному та повторному навантаженні реєстрували час (с) плавання щурів до появи ознак повної втоми, про що свідчила відмова від подальшого плавання та 10-секундне занурення тварин під воду. Щурів було розподілено на 15 груп по 7 особин у кожній: 1–5 групи –

контрольні тварини, які здійснювали повторне плавання відповідно через 2, 4, 8, 24 та 48 год відпочинку після первинного субмаксимального навантаження плаванням; 6–10 групи – щури, яких примушували повторно плавати в аналогічні періоди експерименту на тлі введення сполуки KB-28; 11–15 групи – щури, яких примушували повторно плавати в аналогічні періоди експерименту на тлі введення бемітилу. Таким чином, стало можливим оцінити працездатність щурів у різні проміжки періоду відновлення їхньої фізичної витривалості, яку визначали за динамікою показника плавального тесту відносно початкового рівня (%), прийнятого за 100 %. Сполуку KB-28 (1,7 мг/кг) та бемітил (32 мг/кг) вводили групам тварин роздільно одноразово внутрішньочеревинно (в/ч) одразу після первинного субмаксимального навантаження плаванням, у дозах, що дорівнювали їхньому ЕД₅₀, визначеному у попередньому дослідженні [7]. Щури контрольних груп отримували еквівалентну кількість ізотонічного розчину натрію хлориду. Обробку цифрових даних проводили за методом варіаційної статистики з визначенням t-критерію Стюдента, вірогідними вважали зміни показників при $p \leq 0,05$. Отримані дані представлено на рисунку.



Результати та їх обговорення. За результатами проведеного дослідження встановлено, що в щурів контрольних груп при різних інтервалах відпочинку після попереднього субмаксимального навантаження мало місце значне зниження фізичної працездатності (рисунк). Ознакою цього було вірогідне зменшення тривалості повторного плавання тварин через 2, 4, 8 та 24 год відпочинку після первинного навантаження, що становило відповідно: 48,7, 52,8, 66,5 та 78,1 % відносно початкового рівня. На більш пізньому етапі дослідження (повторне плавання через 48 год відпочинку) відзначено практично повне відновлення фізичної працездатності, про що свідчив показник плавального тесту, зафіксований на рівні, близькому до початкових значень.

На відміну від результатів контрольних груп, фізична витривалість щурів при в/ч роздільному введенні сполуки КВ-28 (1,7 мг/кг), як і бемітилу (32 мг/кг), зберігалася в інтервалі перших 2 год майже на початковому рівні: працездатність складала відповідно 93,6 % та 101,1 % від початкової величини. При цьому встановлено, що в зазначений період експерименту на тлі дії досліджуваних речовин тривалість плавання щурів вірогідно зросла вдвічі порівняно з показниками відповідного контролю. Однак на 4 год експерименту й у групах тварин, які отримували сполуку КВ-28 та бемітил, було відзначено пік зниження тривалості плавального тесту (відповідно до 80,8 та 88,4 % від початкового рівня працездатності), хоча за величиною даного показника в цей термін дослідження все одно встановлено вірогідну перевагу над результатами щурів контрольної групи відповідно в 1,5 та 1,7 рази.

Часові проміжки 8 год та 24 год характеризувалися значним підвищенням фізичної витривалості тварин на тлі фармакологічної корекції. При цьому на 8 год спостереження сполука КВ-28 вірогідно переважала бемітил, а на 24 год – співставлялася з ним за величиною показника плавального тесту. Через 48 год після субмаксимального навантаження тривалість плавання щурів, яким вводили дослі-

джувані речовини, практично не відрізнялася від початкових (до введення препаратів) значень (рисунок).

Аналізуючи отримані результати, можна відзначити наявність певної фазності в процесі відновлення фізичної витривалості після інтенсивних фізичних навантажень у щурів без фармакологічної корекції: рання фаза – перші 2 год після навантаження, проміжна – до 8 год, пізня фаза – до 48 год і більше та включає суперкомпенсацію та стабілізацію. Така картина цілком узгоджується з даними літератури [2, 8] та характеризує процес відновлення як послідовні стадії, що визначаються рівнем працездатності організму, і відображають зміни в фізіологічних системах та гомеостатичних показниках.

Згідно з даними проведеного нами дослідження та, враховуючи точку зору інших фахівців, можна припустити, що значне зменшення тривалості плавального тесту в щурів контрольної групи, особливо в перші 8 год після початкового субмаксимального навантаження, є ознакою виснаження в скелетних м'язах енергетичних запасів, а саме АТФ та креатинфосфату. До того ж відомо, що при виконанні роботи високої інтенсивності енергозабезпечення відбувається, в основному, шляхом гліколітичних процесів, що призводить до швидкого накопичення молочної кислоти в м'язах, яке нарівні з енергодефіцитом є факторами, лімітуючими фізичну працездатність організму [2, 8].

Відсутність фази суперкомпенсації процесу відновлення в групі контрольних тварин за отриманими результатами можна пояснити ще несформованим структурним слідом адаптації у відповідь на одноразове фізичне навантаження та специфікою процесу відновлення після субмаксимального навантаження [1, 8, 10].

Значна перевага показників плавального тесту через 2 год відпочинку в щурів, які отримували роздільно сполуку КВ-28 та бемітил, над результатами відповідного контролю може бути, згідно з даними літератури [9, 10], ознакою здатності цих речовин еконо-

мізувати енергетичні процеси та сприяти повноцінному використанню макроергічних субстратів при виснажливих фізичних навантаженнях. Зафіксоване на 4 год експерименту зниження працездатності на тлі дії досліджуваних речовин можна пов'язати зі специфічними змінами в обміні речовин, спрямованими на відновлення резерву АТФ, креатинфосфату та посиленням анаболічних процесів, характерних для даної стадії відновлення, що узгоджується з точкою зору інших дослідників [8, 9].

Фаза суперкомпенсації, яка відмічена нами на 8 год та 24 год у щурів з фармакологічною корекцією, може бути результатом синтезу швидких білків глюконеогенезу на попередньому етапі, що є одним з механізмів актопротекторної дії бемітилу [8–10]. Високі показники фізичної витривалості в групі тварин, яким вводили сполуку КВ-28 (відповідно), що на 8 год вірогідно переважали показники групи референс-препарату (124,9 % проти 110,4 %), а на 24 год співставлялися з ними (117,0 % та 120,4 %), дають підставу припустити наявність у досліджуваної речовини, подібно до препарату порівняння, активуючого впливу на ферментну систему глюконеогенезу, як складової частини її актопротекторного ефекту.

Таким чином, проведене дослідження підтверджує фазність процесу відновлення фізичної працездатності. Разом з цим встановлено, що введення щурам натрію 2-(тетразолол[1,5-с]хіназолін-5-

ілтію)-ацетату в дозі 1,7 мг/кг, як і бемітилу (32 мг/кг), після первинного субмаксимального навантаження сприяє значному зростанню тривалості плавання щурів при повторному навантаженні порівняно з контрольними тваринами у відповідні періоди експерименту. Отримані результати можуть бути свідченням здатності сполуки КВ-28, як і бемітилу, прискорювати процеси відновлення фізичної працездатності після субмаксимального навантаження. При цьому слід зазначити, що за ефективністю сполука КВ-28 співставлялася з еталонним актопротектором у всі терміни дослідження, за винятком 8 год спостереження, коли вона вірогідно переважала бемітил.

Висновки

1. Процес відновлення фізичної працездатності після субмаксимального навантаження носить фазний характер.

2. Одноразове внутрішньочеревинне введення натрію 2-(тетразолол[1,5-с]хіназолін-5-ілтію)-ацетату (сполуки КВ-28, 1,7 мг/кг) одразу після субмаксимального навантаження, так само як і бемітилу (32 мг/кг), сприяє прискоренню процесів відновлення фізичної працездатності.

3. На тлі одноразового введення щурам сполуки КВ-28, як і бемітилу, тривалість повторного плавання тварин у часовому проміжку 2–24 год вірогідно зростає в 1,5–2,0 разу відносно контролю.

1. Гуніна Л. М. Фармакологічна підтримка молодих спортсменів при інтенсивних фізичних навантаженнях / Л. М. Гуніна, С. В. Олішевський, П. В. Петрик // Ліки України. – 2010. – № 5 (141). – С. 84–90.
2. Кулиненков О. С. Фармакологическая помощь спортсмену: коррекция факторов, лимитирующих спортивный результат / О. С. Кулиненков. – М. : Сов. спорт, 2006. – 240 с.
3. Машковский М. Д. Лекарственные средства / Машковский М. Д. – 16-е изд., перераб., испр. и доп. – М. : Новая волна, 2012. – 1216 с.
4. Осипова Е. Н. Современные средства восстановления физической работоспособности в женском баскетболе / Осипова Е. Н., Осипов В. Н. // Физическое воспитание студентов. – 2010. – № 5. – С. 54–56.
5. Применение метаболической терапии для оптимизации толерантности юных спортсменов к физическим нагрузкам / И. А. Маркелова, Л. А. Балькова, С. А. Ивянский [и др.] // Педиатрия. – 2008. – Т. 87, № 2. – С. 51–56.
6. Скринінг актопротекторної активності в ряду нових похідних 5-R-тію-тетразолол [1,5-с] хіназоліну / Степанюк Г. І., Тозюк О. Ю., Воскобойнік О. Ю та ін. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 5 (30). – С. 59–61.
7. Тозюк Е. Ю. Сравнительная характеристика влияния натрия 2-(тетразолол[1,5-с]хіназолін-5-илтію)ацетата и бемитила на физическую выносливость крыс в условиях длительной гипокинезии / Тозюк Е. Ю., Степанюк Г. І., Черноиван Н. Г. // Курский науч.-практ. вестник «Человек и его здоровье». – 2013. – № 4. – С. 46–49.

-
8. Фармакологическая коррекция утомления / Ю. Г. Бобков, В. С. Виноградов, В. Ф. Катков [и др.]. – М. : Медицина, 1984. – 208 с.
 9. Фармакологическая коррекция физической работоспособности / под ред. Н. Н. Самойлова. – М. : «Зеркало», 2002. – 120 с.
 10. Шабанов П. Д. Нейропротектор Метапрот: механизм действия и новые клинические направления использования / П. Д. Шабанов // Consilium Medicum. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 140–144.

Е. Ю. Тозюк, Г. И. Степанюк

Сравнительная оценка влияния натрия 2-(тетразоло[1,5-с]хиназолин-5-илтио)-ацетата и бемитила на процесс восстановления физической работоспособности крыс

В опытах на крысах установлено, что однократное внутрибрюшинное введение натрия 2-(тетразоло[1,5-с]хиназолин-5-илтио)-ацетата (соединение KB-28, 1,7 мг/кг), как и бемитила (32 мг/кг), после первичной субмаксимальной нагрузки плаванием способствует достоверному увеличению в 1,5–2 раза продолжительности повторного плавания в промежутке 2–24 ч. Эти данные свидетельствуют о способности соединения KB-28, подобно бемитилу, ускорять процесс восстановления физической работоспособности организма после истощающих нагрузок. По эффективности соединения KB-28 сопоставляется с эталонным актопротектором во все сроки исследования, достоверно превосходя его на 8 ч наблюдения.

Ключевые слова: натрия 2-(тетразоло[1,5-с]хиназолин-5-илтио)-ацетат, бемитил, физическая работоспособность, процесс восстановления

E. Yu. Tozyuk, G. I. Stepanyuk

Comparative evaluation of sodium 2-(tetrazol[1,5-c]quinazolin-5-ylthio)-acetate and bemetyl effects on the recovery process of physical working capacity of rats

The aim of the study was to provide a comparative evaluation of the effects of sodium 2-(tetrazol[1,5-c]quinazolin-5-ylthio)-acetate (Compound KB-28) and bemetyl on recovery process of the physical capacity of rats after submaximal exercise stress.

Physical endurance of rats was evaluated on the model of repeated swimming in water until complete exhaustion (t° 24–26 °C) with additional 10 % load. Immediately after primary submaximal exercise stress animals were once intraperitoneally injected with compound KB-28 (1,7 mg/kg) or bemetyl (32 mg/kg). Separate groups of rats repeated swimming after different periods of rest (2, 4, 8, 24 and 48 h).

It was established that the recovery process of physical working capacity after submaximal load has phase character. Physical working capacity in the control groups of rats after previous submaximal load and different period of rest significantly decreased (by 51,3 %, 47,2 %, 33,5 % and 21,9 %) comparing to initial data. After the single intraperitoneal injection of sodium 2-(tetrazol[1,5-c]quinazolin-5-ylthio)acetate (Compound KB-28, 1,7 mg/kg) or bemetyl (32 mg/kg) duration of re swimming comparing to control group increased from 1,5 to 2,0 times in 2–24 hours interval. Received data demonstrate ability of studied compounds to accelerate recovery process after submaximal physical load. The effectiveness of the Compound KB-28 can be compared to the reference drug bemetyl at all stages of study end significantly exceeded it on 8th hour of observation.

Key words: sodium 2-(tetrazol[1,5-c]quinazolin-5-ylthio)-acetate, bemetyl, physical working capacity, the recovery process

Надійшла: 24.03.2014 р.

Контактна особа: Степанюк Георгій Іванович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21018. Тел.: + 38 0432 61 14 00. Електронна пошта: elena.tozyuk@mail.ru

О. К. Ярош¹, О. О. Нагорна², Л. І. Кучеренко³, О. С. Бідненко³

Параметри фармакокінетики таблеток «Ангіолін» у крові щурів після перорального введення

¹ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

²Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

³НПО «Фарматрон», м. Запоріжжя

Ключові слова: таблетки «Ангіолін», кров, фармакокінетика, математичне моделювання

Патологія серцево-судинної системи залишається основною причиною смертності населення як у світі, так і в нашій країні. Тому пошук нових, сучасних, ефективних вітчизняних ліків є актуальною проблемою медицини та має велике соціально-економічне значення.

Пошук ефективних серцево-судинних засобів здійснюється серед нових хімічних сполук, а також на основі поглибленого вивчення й з'ясування нових механізмів уже відомих препаратів, що добре себе зарекомендували тривалою клінічною практикою. У таких клінічно перевірених активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) знаходять нові властивості, зокрема завдяки хімічному докінгу та зміні фармакокінетичного дизайну. Завдяки саме такому підходу створено нову сполуку – лізіній 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіоцтової кислоти («Ангіолін»), синтезовану в НВО «Фарматрон» під керівництвом заслуженого діяча науки і техніки України, професора І. А. Мазура. «Ангіолін» є сіллю (S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіоацетату, утвореною між лужною амінокислотою лізином та 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіооцтовою кислотою [1–3]. Сполуку планується застосовувати для терапії захворювань серцево-судинної групи, особливо при хронічній патології в формі таблеток, фармакокінетика якої при пероральному застосуванні невідома.

Мета дослідження – вивчення основних фармакокінетичних параметрів у крові активного фармацевтичного інгредієнта таблеток «Ангіолін» після перорального введення щурам.

Матеріали та методи. Проведення експериментів здійснювали на 75 щурах, вирощених у ПП «Біомодель-сервіс». 15 тварин використали для приготування бланкової крові в процесі налаштування методики, у 60 щурів відбирали кров у різні проміжки часу після перорального введення таблеткової маси. Досліджувану таблетмасу вводили перорально у вигляді 10 % суспензії в дозі 50 мг/кг маси тіла тварини в перерахунку на вміст АФІ препарату «Ангіолін». Проби крові відбирали після етаназії тварин під ефірним наркозом через 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 та 420 хв від початку введення досліджуваної таблетмаси.

Кількісне визначення субстанції препарату «Ангіолін» проводили за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з мас-спектрометричною детекцією на приладі фірми Agilent Technologies 1200 (США). Розпізнавання АФІ препарату «Ангіолін» здійснювали одноквадрупольним мас-спектрометром з електроспрей-іонізацією за відомими методичними прийомами, які широко використовуються в експериментальній та клінічній фармакокінетиці [4–7]. Хроматографічне розділення здійснювали з використанням двох аналітичних колонок Rapid Resolution HT Cartridge 4,6×30 мм 1,8 мкм Zorbax SB-C18 та Agilent XDB-C18 4,6×50 мм 1,8 мкм, з'єднаних послідовно, для підвищення чутливості та відповідності показників валідаційного тестування до вимог статей ДЕЦ, ДФУ та ЕМЕА [8–10]. Валідацію методики здійснювали за показниками ефекту матриці, специфічності, стабільності, верхньої та нижньої межі кількісного визначення, правильності (внутрішньо- та міжпрогонної), збіжності, ступеня вилучення.

Підготовку проб крові здійснювали шляхом вилучення із сироватки крові АФІ препарату «Ангіолін». Для цього в пробірку типу «еппENDORF» вносили 0,8 мл сироватки, додавали 1 мл метанолу та ставили на 5 хв в ультразвукову баню при температурі 55 °С для повного осадження білково-ліпідних комплексів. Надосадову рідину центрифугували при 8000 об/хв протягом 30 хв, заміряли точний об'єм отриманого прозорого розчину і декантували в нову пробірку.

Для хроматографування по 2 мкл підготовлених біопроб крові, відібраних у різні періоди після введення таблетмаси, вносили до віал. Елюювання проводили в ізократичному режимі з наступним промиванням колонки. Як рухому фазу використовували суміш вода-ацетонітрил (9:1) з додаванням 0,5 % розчину мурашиної кислоти (фаза А). Промивання колонки здійснювали розчином ацетонітрилу з 0,5 % мурашиної кислоти (фаза В). Швидкість потоку становила 0,5 мл/хв при температурі 45 °С. Метод реєстрації – SIM Method (174 m/z). Фрагментор – 120, напруга на капілярі – 4000 В, температура газу – 250 °С, швидкість – 12 л/хв, тиск розпилювача – 35 psig. Час утримання АФІ «Ангіолін» реєстрували на 2,95–3,00 хв, загальна тривалість аналізу складала 10 хв (з урахуванням промивання колонки).

Дані експериментів піддавали статистичній обробці за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel та Statistica 6.0 з використанням t-критерію Стюдента [11–13].

Результати та їх обговорення. При розробці методу та виконанні

обов'язкових процедур валідації для визначення адекватності знайденої процедури підготовки проб крові здійснювали побудову градувального (калібрувального) графіка залежності площі хроматограм від концентрації досліджуваної сполуки. На рисунку 1 наведено графік поліноміальної залежності третього ступеня, побудований на основі зареєстрованих хроматограм калібрувальних розчинів АФІ препарату «Ангіолін». У дослідженні можливий рівень максимальної концентрації вибирали, виходячи з введеної дози та прогнозування можливої верхньої межі кількісного визначення (ВМКВ), з урахуванням дози, шляху введення, ймовірного ступеня руйнування речовини під впливом ферментів крові і т. ін. Виявили, що між площами отриманих піків та концентраціями відповідних розчинів сполуки в розробленому процесі підготовки біопроб крові кореляція була на рівні $K_{\text{кор}} = 0,9999$. Отриманий градувальний графік за параметрами відповідав вимогам ДФУ.

Графік описують поліномом третього ступеня:

$$S = aC^3 + bC^2 + cC - d, \quad (I)$$

де $a = 6,6725661414 \cdot 10^{-19}$;

$b = 8,7576326420 \cdot 10^{-11}$;

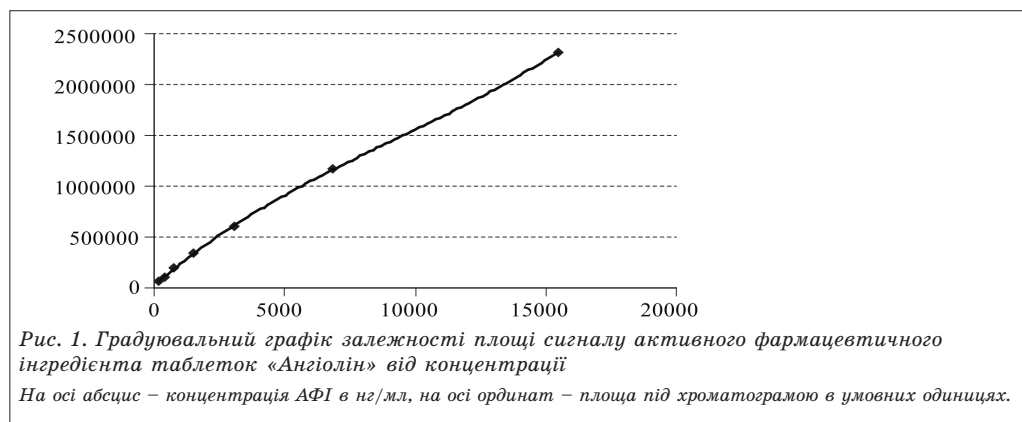
$c = 4,0059743077 \cdot 10^{-3}$;

$d = 11,537250951$;

C – концентрація АФІ препарату «Ангіолін», нг/мл;

S – площа піка АФІ препарату «Ангіолін» на хроматограмі,

тобто $S = 6,6725661414 \cdot 10^{-19}C^3 + 8,7576326420 \cdot 10^{-11}C^2 + 4,0059743077 \cdot 10^{-3}C - 11,537250951$



**Концентрація активного фармацевтичного інгредієнта
препарату «Ангіолін» (нг/мл) у сироватці крові щурів (n = 60)
після перорального введення таблеткової маси в дозі 50 мг/кг**

Час після введення, хв											
	15	30	45	60	90	120	180	240	300	360	420
M	1717,3	5879,6	2805,7	3818,1	917,2	1353,7	538,4	327,6	293,6	384,9	412,0
± m	210,6	1613,6	407,5	942,7	243,6	393,8	83,4	101,7	11,7	56,1	135,9

За умов експерименту *in vivo* на щурах отримані результати визначення АФІ препарату «Ангіолін» та аналіз їх показав, що вже через 15 хв після перорального введення таблетмаси концентрація АФІ визначалася в сироватці крові на рівні $1717,3 \pm 210,6$ нг/мл сироватки (табл. 1).

Типові хроматограми при кількісному визначенні рівня АФІ препарату

«Ангіолін» у калібрувальних розчинах та крові, одержані з дотриманням умов, викладених у вимогах ДФУ та рекомендаціях ДЕЦ, GLP, FDA та EMEA [7, 9, 10], наведено на рисунку 2.

Максимальну концентрацію АФІ таблеток «Ангіолін» у крові реєстрували через 30 хв після введення на рівні $5879,6 \pm 1613,6$ нг/мл. Однак уже на 45 хв після введення розпочи-

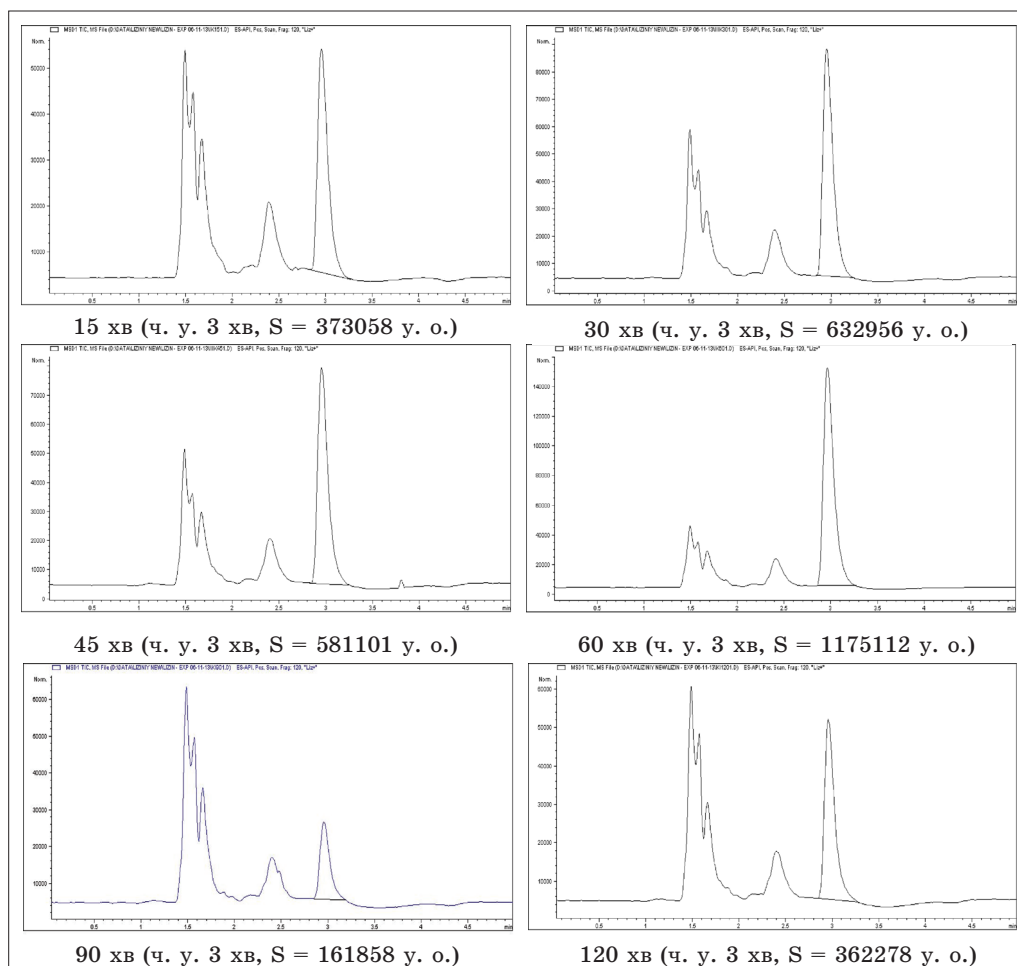


Рис. 2. Типові хроматограми АФІ таблеток «Ангіолін» (інтегровані) у крові щурів відповідно через 15, 30, 45, 60, 90 та 120 хв після перорального введення сполуки в дозі 50 мг/кг маси тіла

Примітка. ч. у. – час утримання АФІ таблеток «Ангіолін», хв; S – площа під хроматограмою, у. о.

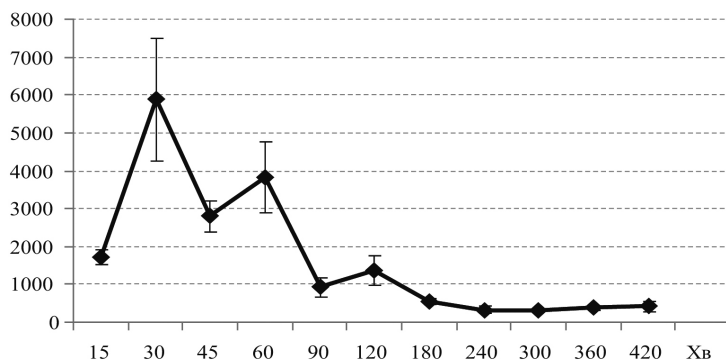


Рис. 3. Динаміка концентрації АФІ таблеток «Ангіолін» у крові щурів у різні періоди після його одноразового введення в дозі 50 мг/кг

Примітка. По осі абсцис – час після введення таблеток «Ангіолін», хв; по осі ординат – концентрація АФІ таблеток «Ангіолін», нг/мл.

налося зниження вмісту сполуки в крові, коли її концентрація падала більше ніж удвічі і становила $2805,7 \pm 407,5$ нг/мл. Через 60 хв після введення таблеткової маси спостерігали другий підйом концентрації активної сполуки препарату, але він виявився нижчим, ніж перший і досягав тільки $3818,1 \pm 942,7$ нг/мл.

Зниження вмісту препарату «Ангіолін» до показника майже нижньої межі визначення спостерігали на 90 хв. У цей період після введення таблеткової маси вміст досліджуваної субстанції реєстрували на рівні $917,2 \pm 243,6$ нг/мл. На відрізку часу від 120 хв до 420 хв концентрацію АФІ препарату «Ангіолін» реєстрували в межах $1353,7 \pm 393,8$ нг/мл до $293,6 \pm 11,7$ нг/мл. Наприкінці експерименту – 420 хв (7 год) після введення препарату вміст АФІ становив тільки $412,0 \pm 135,9$ нг/мл.

Таким чином, моніторинг концентрації активної сполуки таблеток «Ангіолін» у крові щурів показав, що досягнення її максимального накопичення в сироватці крові відбувалося на 30 хв експерименту і сягало $5879,6 \pm 1613,6$ нг/мл сироватки.

Натомість, розраховані параметри з використанням 2-часткової моделі зі всмоктуванням шляхом інтегрування експериментальних даних, отриманих у досліді *in vivo* на щурах, з використанням математичної моделі «Borgia» [5, 6, 9] дали змогу встановити інші параметри фармакокінетичного профілю АФІ таблеток «Ангіолін». Отримані результати представлено в таблиці 2.

Порівнюючи результати експериментальних досліджень з даними, отриманими при математичному моделюванні кінетичних параметрів, можна констатувати, що досить багато показників

Таблиця 2

Фармакокінетичні параметри активного фармацевтичного інгредієнта таблеток «Ангіоліну» у сироватці крові щурів після перорального введення в дозі 50 мг/кг за умов обрахування параметрів з використанням математичної моделі

№	Параметр	Показники та їхня розмірність	Кров
1	Уявна початкова концентрація	C_0 (нг/мл)	$9,00 \pm 1,12$
2	Максимальна концентрація препарату	C_{max} (нг/мл)	$6481,4 \pm 736,2$
3	Уявний об'єм розподілу	V_d (мл/кг)	$3,11 \pm 0,29$
4	Площа під фармакокінетичною кривою	AUC (нг/хв*мл)	$6111,3 \pm 714,2$
5	Константа напівелімінації	K_{el} (хв ⁻¹)	$7537,5 \pm 871,7$
6	Загальний кліренс	Cl_t (мкг/хв)	$771,9 \pm 86,5$
7	Середній час перебування в крові	MRT (хв)	$179,7 \pm 59,8$

повністю або частково співпадають з отриманими в результаті проведених експериментів *in vivo*. Порівняння результатів реальних досліджень на щурах та віртуальних параметрів, розрахованих з використанням математичного моделювання, дає змогу застосовувати їх на певному етапі розвитку фармакокінетики. Сьогодні паралельне використання обох методів необхідне для накопичення достатнього фактичного матеріалу для збільшення точності математичного моделювання. Це дасть змогу максимально наблизити віртуальні результати до показників реальних біологічних експериментів. У майбутньому розвиток і впровадження таких досліджень принесе відчутну біотичну та економічну користь.

Висновки

1. Розроблена методика ВЕРХ з мас-спектрометричною детекцією для кількісного визначення активного фармацев-

тичного інгредієнта таблеток «Ангіолін» валідована та відповідає вимогам ДФУ та рекомендаціям ДЕЦ, GLP, FDA і ЕМЕА.

2. Після одноразового перорального введення таблеткової маси препарату «Ангіолін» щурам у дозі 50 мг/кг максимальна концентрація (C_{max}) активного фармацевтичного інгредієнта в крові за експериментальними результатами становить $5879,6 \pm 1613,6$ нг/мл, обрхована за математичною моделлю – $6481,4 \pm 736,2$ нг/мл.

3. Середній час перебування (MRT) у сироватці крові за даними експериментів на щурах становить 180 хв, коли концентрація АФІ препарату «Ангіолін» падає до рівня $538,4 \pm 83,4$ нг/мл, а при обрахуванні віртуальної математичної моделі – $179,7 \pm 59,8$ хв.

4. Показник кліренсу діючої речовини таблеток «Ангіолін» з крові щурів становить за експериментально-розрахунковими даними в середньому $771,9 \pm 86,5$ мкг/хв.

1. Метаболитотропные препараты / И. А. Мазур, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев [и др.]. – Запорожье, 2007. – 309 с.
2. Мазур І. А. Патент України № 86668 № C07 D, A61K 31/41 «Лізіній 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіоцтової кислоти, викликаючий нейропротективну, ноотропну, кардіопротективну, ендотеліотропну, протиішемічну, антиоксидантну, протизапальну, протигіпоксичну дію і маючу низьку токсичність / І. А. Мазур, Ю. М. Колесник, Л. І. Кучеренко, І. Ф. Беленічев та ін. Заявл. 04.06.2007. Опубл. 20.10.2009.
3. Мазур І. А. Патент РФ № 21370492 C07 D, A61K 31/41 «Лизиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоуксусной кислоты, проявляющий нейропротективное, ноотропное, кардиопротективное, эндотелиотропное, противоишемическое, антиоксидантное, противовоспалительное, противогипоксическое действие и обладающий низкой токсичностью / И. А. Мазур, Ю. М. Колесник, Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев и др. Заявл. 04.06.2007. Опубл. 20.10.2009.
4. Pharmacokinetic Optimization in Drug Research / B. Testa, H. Waterbeemd, G. Folkers, R. Guy // Verlag Helvetica Chimica Acta. Zurich. – 2001. – 655 p.
5. Фармакокінетика / Н. Н. Каркищенко, В. В. Хоронько, С. А. Сергеева, В. Н. Каркищенко. – Ростов-на-Дону : «Феникс», 2001. – 384 с.
6. Методические рекомендации: Расчеты фармакокинетических параметров лекарственных средств (линейные частевые модели) / Н. Я. Головенко, О. В. Жук, В. Г. Зиньковский [и др.]. – К. : ГФЦ МЗ Украины, 2003. – 19 с.
7. Валидация биоаналитического метода / Н. А. Жукова, В. В. Либина, И. В. Кудрис, Н. Н. Падалко // Методические рекомендации. – К. : ГП ГЭЦ, – 2013. – 35 с.
8. Лук'яничук В. Д. Введення до загальної фармакокінетики / В. Д. Лук'яничук, Д. С. Кравець. – Луганськ : БАТ «ЛОТ», 2004. – 116 с.
9. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України. ДП «Наук.-експертн. фармакоп. центр». 1-е вид. – Харків : РІРЕГ, 2001. – Доп.1. – 2004. – С. 187–221.
10. Guideline on bioanalytical method validation / Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP)/ЕМЕА/CHMP/EWP/19221/2009 // 21 July 2011. – 22 p.
11. Сернов Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. – М., 2000. – 345 с.
12. Гельман В. Я. Медицинская информатика: практикум / В. Я. Гельман. – СПб. : Питер, 2001. – 480 с.
13. Лапач С. Н. Статистика в науке и бизнесе / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2002. – 640 с.

А. К. Ярош, Е. А. Нагорная, Л. И. Кучеренко, О. С. Бидненко

Параметры фармакокинетики таблеток «Ангиолин» в крови крыс после перорального введения

Проведено исследование основных параметров фармакокинетики таблеток нового сердечно-сосудистого препарата «Ангиолин» в крови крыс с использованием ВЭЖХ с масс-спектрометрической детекцией. «Ангиолин» разработан НПО «Фарматрон», г. Запорожье. Разработана и валидирована методика определения активного фармацевтического ингредиента (АФИ) нового препарата таблеток «Ангиолин», соответствующая требованиям Государственной Фармакопеи Украины, Государственного экспертного центра МЗ Украины, рекомендациям GLP, FDA и EMEA. Установлены основные показатели времени достижения ($t_{\max} = 30$ мин) максимальной концентрации ($C_{\max} = 6481,4 \pm 736,2$ нг/мл), распределения ($V_d = 3,11 \pm 0,29$ мл/кг), среднего времени пребывания в крови ($MRT = 179,7 \pm 59,8$ мин) и клиренса неизменной фракции с мочой ($Cl = 771,9 \pm 86,5$ мкг/мин).

Анализируются и сравниваются показатели фармакокинетики таблеток «Ангиолин», полученные в эксперименте, и при математическом моделировании с использованием 2-частевой модели со всасыванием.

Установленные данные могут использоваться при составлении инструкции для клинических исследований с учетом определения необходимого дозирования для людей и подготовки досье к регистрации в ГЭЦ МЗ Украины.

Ключевые слова: таблетки «Ангиолин», кровь, фармакокинетика, математическое моделирование

A. K. Yarosh, H. A. Nagornaya, L. I. Kucherenko, O. S. Bidnenko

The pharmacokinetic parameter of the «Angiolin» tablets in rats blood after oral administration

To aim of this study was to evaluate the basic pharmacokinetic parameters of new cardiovascular drug «Angiolin» tablets in the blood of rats using HPLC with mass spectrometric detection. «Angiolin» was developed by the SPU «Farmatron» Zaporozhye. A new method for determination of the active pharmaceutical ingredient (API) of a new drug was designed in accordance to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine, State Expert Center MHC of Ukraine, GLP, the FDA and the EMEA recommendations.

The basic indicators of the time ($t_{\max} = 30$ min) maximum concentration achievement ($C_{\max} = 6481,4 \pm 736,2$ ng/ml), distribution ($V_d = 3,11 \pm 0,29$ ml/kg), the mean residence time in the blood ($MRT = 179,7 \pm 59,8$ min), and unmodified fractions with the clearance urine ($Cl = 771,9 \pm 86,5$ μ g/min) were established.

The kinetics parameters «Angiolin» in mathematical modeling using 2-piece body model with absorption were presented.

Comparative analysis of the values obtained in the experiment and calculations in mathematical virtual mathematical modeling of individual pharmacokinetic indicators were provided.

The obtained data can be used for guidelines for clinical trials using the definition of the required dosage for humans and preparing the data for registration in SEC.

Key words: pharmacokinetics, tablets «Angiolin», blood, mathematical modeling

Надійшла: 05.03.2014 р.

Контактна особа: Ярош Олександр Кузьмич, відділ фармакокінетики, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потье, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 98 65. Електронна пошта: yarosh44@mail.ru

G. M. Shayakhmetova

Testicular damage in rats after co-administration of anti-tuberculosis drugs in different combinations

SI «Institute of Pharmacology & Toxicology of National Academy
of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv

Key words: antituberculosis drugs, fertility, testes, rat

In 2004, the WHO Assembly announced protection of reproductive health as a world-wide priority and approved the first international strategy on this problem [1]. On the assumption of the potential risks for reproductive health, special concern was given to the ability of a great number of xenobiotics (including medicines) to affect the function of reproductive system [2].

The epidemiological situation of tuberculosis in Central and Eastern Europe keeps worsening [3]. In general, all patients from countries with a known high incidence of resistant *M. tuberculosis* strains, all patients who had been treated previously, and all patients with life-threatening tuberculosis received as initial anti-tuberculosis therapy a combination of isoniazid, rifampin and pyrazinamide, together with at least one additional drug (ethambutol and/or streptomycin) [4]. The antifertility effect of antituberculosis drugs in combination, which contains ethambutol, in male rats has been reported earlier [5]. We suppose that for young men who have tuberculosis infection, the success of treatment with regimens that are toxic to testicular function could make reproductive disorders an important problem. After recovery, the quality of life, which often includes the ability to have a normal child, could become a major issue. Analysis of potential effects of different anti-tuberculosis drugs combinations on the male gonads is urgently required for the development of more effective and safe regimens for the prevention and treatment of tuberculosis infection.

The aim of the study was comparative

investigation of the two anti-tuberculosis drugs combinations, which contained ethambutol or streptomycin, effects on male rats' fertility and spermatogenesis parameters, as well as antenatal development of their offspring.

Materials and methods. Substances of ethambutol, isoniazid, pyrazinamide and rifampicin were supplied by the SIC «Borzhagovsky Chemical-Pharmaceutical Plant» CJSC, Ukraine. Streptomycin (powder for injection) was supplied by «Arterium», Ukraine.

Wistar albino male and female rats, body weight (b. w.) 150–170 g were purchased from Biomodel Service (Kyiv, Ukraine). The animals were kept at standard conditions of nutrition, water and light regimens. The study was carried out according to the national and international guidelines and the law on animal protection. All animal studies were performed in accordance with the recommendations of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes and approved by the Institutional Animal Care and Use Committee.

The male rats were divided into 3 groups: 1-control (n = 22); 2 – 1st combination (ethambutol, rifampicin, isoniazid, and pyrazinamide) administration (n = 22); 3 – 2nd combination (streptomycin, rifampicin, isoniazid, and pyrazinamide) administration (n = 16). Antituberculosis drugs were given in DOTS (directly observed treatment, short-course) regimen at maximal doses used in clinic [6]: ethambutol – 155 mg/kg b. w./day or streptomycin 14 mg/kg b. w./day, rifampicin – 74,4 mg/kg b. w./day, isoniazid – 62 mg/kg b. w./day, and pyrazinamide – 217 mg/kg b. w./day for 60 days (duration of spermatogene-

sis process and time of germ cell maturation in epididymis). Streptomycin was administered intramuscularly in 0,5 % novocaine solution. The other substances were suspended in 1% starch gel and administered intragastrically by gavage, and in this case the coefficient for conversion of human doses to animal equivalent doses based on body surface area was taken into account [7]. The control group received only starch gel in corresponding volumes (5 ml/kg b. w.). After 46 days of repeated administrations, the males from all groups were mated with intact females at the ratio 1 male: 2 females during 14 days (approximately 2–3 oestrous cycles). During this period the administration of antituberculosis drugs to male rats was continued. Effects of antituberculosis drugs on fertilizing capacity were determined by the index:

$$\frac{\text{number of pregnant females}}{\text{number of females mated with males}} \cdot 100 \%$$

The females were sacrificed under mild ether anesthesia via cervical dislocation on day 20 of pregnancy. The numbers of corpora lutea in ovaries, of implantation sites and of live and dead fetuses in each uterine horn were counted after laparotomy of pregnant females. Indices of embryonic death at pre- and postimplantation periods of development were calculated according to standard procedures [8].

Males were sacrificed under mild diethyl ether anesthesia by decapitation after 60 days (duration of spermatogenesis and time of germ cell maturation in epididymis) of experiment.

In all cases the right testicle was used for the evaluation of morphologic and morphometric parameters and spermatogenesis indices. It was fixed in a 10 % solution of neutral formalin, dehydrated in ethanol solutions, and embedded in paraffin. Histologic sections (6 µm) were stained by haematoxylin and eosin. Histological examination was performed under a light microscope (100× and 400×).

The determination of the spermatogenic index in testicles was carried out

according to four points system. It was based on the estimation of number of cell layers, types of cells, and the presence of late spermatids in the seminiferous tubules. The criteria were as follows: 1 – only spermatogonia present; 2 – spermatogonia and spermatocytes present; 3 – spermatogonia, spermatocytes and round (early) spermatids present with < 5 late spermatids per tubule; 4 – spermatogonia, spermatocytes, and round spermatids present with up to 25 late spermatids per tubule [21]. Simultaneously qualitative changes of spermatogenic epithelium: cells exfoliation (shedding of epithelial elements), desquamation epithelium (detachment) from tubule basal membrane, and presence of cell-free regions («windows») were taken into account.

The contents of reduced glutathione and proteins SH-groups in testes homogenates were determined with Ellman's reagent [9], lipid peroxidation was investigated as the rate of ascorbate-induced thio-barbituric acid reactive substances (TBARS) formation [10], protein contents by Lowry's method [11].

The obtained data were calculated by one-way analysis of variance (ANOVA) and compared using the Tukey test. Differences were considered statistically significant at $p < 0,05$.

Results and discussions. Almost regardless of the cellular target of toxicity within reproductive system, the most common morphological consequence of injury is a disturbance in spermatogenesis. In our experiment administration of both antituberculosis drugs combination in rats was accompanied by a development of destructive changes in spermatogenic epithelium. According to the data of Table 1, the spermatogenic indexes in the both experimental groups were decreased in comparison with control (simultaneously with mitotic activity and number of spermatogonia). At the same time number of cells at XII stage of spermatogenesis (characterizing primary spermatocytes meiotic division processes), demonstrated only tendency to lowering in 1st combination-treated group and statistically significant decrease in 2nd combination-treated group.

Beside the above mentioned quantitative changes, qualitative changes of sper-

Table 1

Spermatogenic epithelium indices after different anti-tuberculosis drugs combinations administration ($M \pm S. E. M.$)

Parameters	Group of males		
	control	1 st combination	2 nd combination
Spermatogenic index (stages of spermatogenesis total/number of examined tubules)	3,615 $\pm$ 0,011	3,535 $\pm$ 0,014*	3,533 $\pm$ 0,011*
Number of spermatogonia (per tubular cross section)	69,393 $\pm$ 0,742	59,573 $\pm$ 0,861*	54,56 $\pm$ 2,398*
Cells at XII stage of spermatogenesis, %	3,563 $\pm$ 0,365	2,412 $\pm$ 0,508	2,455 $\pm$ 0,366*
Desquamated epithelium, %	1,063 $\pm$ 0,249	2,882 $\pm$ 0,283*	1,818 $\pm$ 0,444
Exfoliation of epithelium, %	0,313 $\pm$ 0,120	1,882 $\pm$ 0,363*	1,545 $\pm$ 0,390*
«Windows», %	0,500 $\pm$ 0,158	1,765 $\pm$ 0,265*	2,270 $\pm$ 0,070

* $P < 0,05$ in comparison with control.

matogenic epithelium were also presented in the seminiferous tubules of both groups of rats. Increased level (2,7 times) of epithelial cells desquamation was observed after 1st combination administration (table 1). Great degenerative changes in testes such as epithelium exfoliation into the lumen of seminiferous tubules and presence of cell-free regions («windows») were also presented in great quantity in the experimental groups (table 1).

Thus, our results indicate great spermatogenesis impairment, which could cause lowering of sperm quantitative and qualitative parameters [12].

Parameters, which reflect the energy potential of sperm (time of motility) and its resilience to changes of the environment (osmotic resistance) are shown in the Figure 1. It was indicated that total time of sperm motility after administration of 1st and 2nd combination reduced 77 and 34 % respectively as compared

with control. The viability of spermatozooids in KCl solutions of rising concentrations, decreased 65 % in 1st combination-treated rats, while in 2nd combination-treated animals this parameter revealed only clear tendency to decrease.

It is known that antituberculosis drugs administration produces the overproduction of reactive oxygen species (ROS) and activation of lipid peroxidation [13]. In our experiments we demonstrated an increase of TBARS formation in rat testis (15 %) and epididymal suspension of spermatozooids (38 %) in the group with 1st combination administration in comparison with the control group (table 2).

Following 2nd combination treatment only intensification of lipid peroxidation in testes was detected (table 2).

Administration of 1st combination also resulted in some decrease of reduced glutathione testicular pool (23 %) due to peroxidation processes activation (fig. 2).

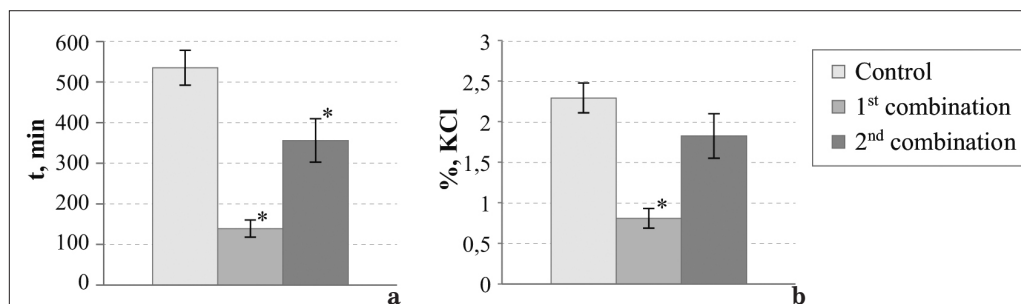


Fig. 1. Qualitative parameters of rats' sperm after different anti-tuberculosis drugs combinations administration: a) time of motility; b) osmotic resistance

* $P < 0,05$ in comparison with control

Table 2

The rate of ascorbate-induced formation of TBARS in male rats testes and epididymal suspension of spermatozooids, nmoles · min⁻¹ · mg of protein⁻¹

Group of males	Tissues	
	testes	epididymal suspension of spermatozooids
Control	0,250 ± 0,020	0,100 ± 0,006
1 st combination	0,317 ± 0,010*	0,162 ± 0,006*
2 nd combination	0,302 ± 0,031*	0,104 ± 0,006

*P < 0,05 in comparison with control.

It should be noted that ROS play a central role for sperm physiology, such as sperm maturation and capacity [14]. On the other hand, abnormal ROS production is associated with defective sperm function. The delicate balance between ROS production and recycling is essential for spermatogenesis. Excessive generation of seminal ROS can cause male infertility [14]. In our experiment the increase of testicular and epididymal lipid peroxidation may be a result of *in situ* formation of ROS due to antituberculous agents metabolism. It is important to emphasize the presence of high-inducible CYP2E1 in male gonads [15]. At least isoniazid and rifampicin may act as CYP2E1 inducers [16]. Previously we have reported the possibility of 1st combination to increase CYP2E1 mRNA content in testes of rats [17]. CYP2E1 generates ROS, such as superoxide radicals, which in turn could rapidly react with organic molecules generating secondary free radicals.

Less pronounced intensity of peroxidation processes in the testes of 2nd combination-treated rats at list partially could be associated with the inhibition of CYP2E1 protein synthesis by streptomycin. The *in vitro* activities of many aminoglycoside antibiotics in eucaryotic model systems derived from yeasts and mammalian cells were studied. The ability of aminoglycoside antibiotics to inhibit protein synthesis via inhibition the

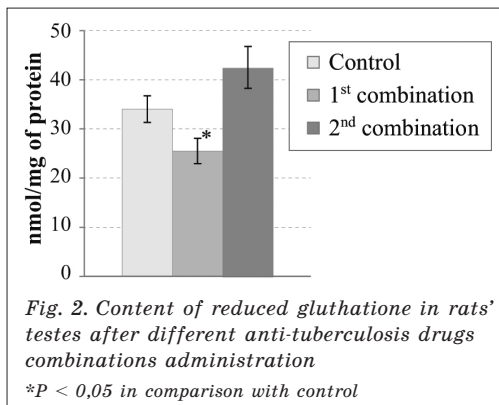


Fig. 2. Content of reduced glutathione in rats' testes after different anti-tuberculosis drugs combinations administration

*P < 0,05 in comparison with control

polypeptide chain elongation phase was demonstrated [18].

Our data on sperm quality were in good accordance with results concerning fertilizing capacity of experimental animals (table 3). The smaller number of pregnant females in the experimental groups could be evidence of decreased male fertility after antituberculosis drugs administration (table 3). But it is obvious, that the fertility index in 2nd combination – treated group decreased insignificantly, while 1st combination caused fatal decrease of this parameter.

In general it was difficult to perform adequate statistic analysis of fetal antenatal development indices in 1st combination-treated group due to very low number of pregnant females, but the negative tendencies appeared to be evident (table 4). The number of living fetuses

Table 3

Male rats' fertility index after different anti-tuberculosis drugs combinations administration

Group of males	Number of mated females	Number of pregnant females	Fertility index, %
Control	44	38	86,36
1 st combination	44	4	9,09
2 nd combination	32	25	78,12

Table 4

Embryo- and fetogenesis parameters on day 20th of gestation of intact female rats sired by experimental male rats

Parameters	Group of males		
	Control	1 st combination	2 nd combination
Number of pregnant females	38	4	25
Total number of corpora lutea	403	50	259
Number of corpora lutea per one female, $M \pm S. E. M.$	$10,60 \pm 0,28$	$12,5 \pm 3,20$	$10,36 \pm 0,38$
Total number of implantation sites	380	30	228
Number of implantation sites per one female, $M \pm S. E. M.$	$10,0 \pm 0,31$	$7,50 \pm 3,43$	$9,12 \pm 0,64$
Preimplantational loss, abs/%	23/5,7	18/40,0	30/12,0
Preimplantational loss per one female, $M \pm S. E. M.$	$0,61 \pm 0,21$	$4,50 \pm 1,94$	$1,20 \pm 0,41$
Postimplantational loss, abs/%	10/2,63	19/63,33	18/12,0
Postimplantational loss per one female, $M \pm S. E. M.$	$0,26 \pm 0,08$	$4,75 \pm 3,81$	$0,72 \pm 0,21^*$
Total number of living fetuses, abs/%	371	11	212
Number of living fetuses per one female, $M \pm S. E. M.$	$9,76 \pm 0,32$	$2,75 \pm 2,43$	$8,48 \pm 0,66$
Total mortality, %	7,94	78,0	18,15

per one female in this group was lowered, while 2nd combination didn't show negative effect (table 4).

The comparison of embryoletality levels in experimental and control groups at different terms of embryonal development demonstrated great negative effects of antituberculosis drugs in 1st combination. In this experimental group the levels of paternal mediated pre- and postimplantational lethality increased respectively 7 and 24 times as compared with control (table 4). The 2nd combination revealed more weak effect: pre- and postimplantational lethality levels were increased only 2 and 4 times (table 4).

In our experiments postimplantational lethality may have been caused by genotoxic action of substances [12].

This assumption could be confirmed by the data of experiments on mice demonstrating weak genotoxicity of pyrazinamide at doses of 125, 250 and 500 mg/kg b. w. [19]. Moreover, in vitro experiments showed that one isoniazid metabolite – mono acethylhydrazine – increased the number of *Salmonella typhimurium* TA100 and TA1535 revertant mutations and the number of micronuclei in polychromatophylic erythrocytes, which

could be evidence of its mutagenic action [20]. The weak mutagenic effect of isoniazid and its ability to cause liver DNA injury was also demonstrated experimentally [21, 22]. Rifampicin genotoxicity investigation showed increased frequency of sister chromatids exchanges in bone marrow cells at doses of 160, 240 and 310 mg/kg b. w. and a number of chromosomal aberrations of spermatocytes at the dose of 80 mg/kg b. w. [23]. The most recent data suggest that isoniazid and rifampicin gave positive responses in both genotoxicity and carcinogenicity assays; pyrazinamide tested positive in one genotoxicity assays, but was non-carcinogenic; ethambutol gave positive response in micronucleus test with Swiss mice *in vivo* and streptomycin – positive response in Ames test [24].

As to preimplantation lethality, it must be stressed that mutagenic, as well as non-mutagenic effects could be involved. Particularly, abovementioned data of other authors allow us to assume the mutagenic events in germ cells, while results of our present study evidenced about spermatotoxic action (table 1) of both anti-tuberculosis drugs combinations.

The great part of paternal-mediated negative effects could be attributed to

ethambutol, which significant male-mediated developmental toxicity was demonstrated previously [25]. Presented results clearly indicated that, ethambutol replacement by streptomycin in certain manner alleviated such abnormalities.

Conclusions. In experiments with male rats we have shown a significant gonadal toxicity of co-administered rifampicin, isoniazid, pyrazinamide and ethambutol therapeutic doses. Ethambutol replacement by streptomycin allowed us in certain grade to avoid toxic action of anti-tuberculosis drugs on testes and alleviate some paternal-mediated negative effects in offspring.

It is clear that direct extrapolation of obtained results to humans cannot be done due to interspecies differences. Nevertheless, taking into account that compared to rats used routinely in toxicity testing, fertility of the human male is

particularly susceptible to agents that reduce the number or quality of sperm produced [12], we consider to be reasonable supervise the sperm quality in patients treating with fixed-dose anti-tuberculosis drugs combinations. In our opinion a critical examination of the evidence, both epidemiological and laboratory animals' data, for effects of antituberculous drugs on human fertility should be done in order to reach a general conclusion.

The data obtained allow us to add new evidence to the theoretical base for understanding of male infertility mechanisms and paternal-mediated negative impacts in posterity.

Acknowledgments. The author would like to thank A. V. Matvienko and I. S. Blazchuk for performing spermatogenesis parameters and sperm quality examinations.

1. Reproductive health strategy to accelerate progress towards the attainment of international development goals and targets Global strategy adopted by the 57th World [Електронний ресурс]. – режим доступу: http://www.who.int/reproductivehealth/publications/general/RHR_04_8/en/index.htm
2. Occupational and lifestyle exposure on male infertility: A Mini Review. / J. Ten, J. Mendiola, A. M. Torres-Cantero [et al.]. // The Open Reproductive Science Journal. – 2008. – № 1. – P. 20–21.
3. Arinaminpathy N. Health in financial crises: economic recession and tuberculosis in Central and Eastern Europe / N. Arinaminpathy, C. Due // J. R. Soc. Interface. – 2010. – V. 7, № 52. – P. 1559–1569.
4. Palomino J. C. Tuberculosis clinical trial update and the current anti-tuberculosis drug portfolio / J. C. Palomino, A. Martin // Curr. Med. Chem. – 2013. – V. 20, № 30. – P. 3785–3796.
5. Shayakhmetova G. M. Damage of testicular cell macromolecules and reproductive capacity of male rats following co-administration of ethambutol, rifampicin, isoniazid and pyrazinamide / G. M. Shayakhmetova, L. B. Bondarenko, V. M. Kovalenko // Interdiscip Toxicol. – 2012. – V. 5, № 1. – P. 9–14.
6. Donate J. M. B. Treatment of Tuberculosis / J. M. B. Donate // Business briefing: European Pharmacotherapy. – MWL Print Group Ltd, 2006. – P. 1–4.
7. Guidance for Industry and Reviewers Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers US. of Department of Health and Human Services, FDA, CDER and CBER. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>
8. Current Protocols in Toxicology / Ed. by M. Maines, John Wiley & Sons, Inc. – 2005. – P. 2758.
9. Sedlak J. Estimation of total, protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent / J. Sedlak, R. Lindsay // Anal. Biochem. – 1968. – V. 25, № 1. – P. 192–205.
10. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биологии / под ред. В. Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
11. Protein measurement with Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr [et al.] // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193. – P. 265–275.
12. Principles and Methods of Toxicology, 4th edition. / Ed. by A. Wallace Hayes, 2001. – 1887 p.
13. Arbex M. A. Antituberculosis drugs: Drug interactions, adverse effects, and use in special situations. Part 1: First-line drugs / M. A. Arbex, M. de Castro Lima Varella, H. R. de Siqueira F. A., de Mello F. // J. Bras. Pneumol. 2010. – V. 36, № 5. – P. 626–640.
14. El-Tohamy M. M. The mechanisms by which Oxidative Stress and Free Radical Damage produces Male infertility. / M. M. El-Tohamy // Life Science Journal 2012. – V. 9, № 1. – P. 674–688.
15. Trifluoroacetylated adducts in spermatozoa, testes, liver and plasma and CYP2E1 induction in rats after subchronic inhalatory exposure to halothane. / L. F. Oropeza-Hernandez, B. Quintanilla-Vega, R. A. Reyes-Mejia [et al.] // Toxicol. Lett. – 2003. – V. 144, № 1. – P. 105–116.
16. Protective effects of kaempferol on isoniazid- and rifampicin-induced hepatotoxicity / T. Y. Shih, T. H. Young, H. S. Lee [et al.] // AAPS J. – 2013. – V. 15, № 3. – P. 753–762.
17. Вплив комбінації протитуберкульозних засобів на рівень експресії мРНК ізоформ цитохрому P-450 у сім'яниках щурів та стан їх сперматогенного епітелію / Г. М. Шаяхметова, Л. Б. Бондаренко, А. В. Матвієнко, В. М. Коваленко // Одеський медичний журнал. – 2012. – № 4. – С. 11–14.
18. Eustice D. C. Mechanisms of Action of Aminoglycoside Antibiotics in Eucaryotic Protein Synthesis / Eustice D. C., Wilhelm J. M. // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 1984. – V. 26, № 1. – P. 53–60.
19. Genotoxicity evaluation of pyrazinamide in mice / B. Anitha, S. Sudha, P. M. Gopinath [et al.] // Mutat. Res. – 1994. – V. 321, № 1–2. – P. 1–5.
20. Mutagenicity and carcinogenicity of mono- and diacetyl hydrazine / S. V. Bhide, E. B. Bhalerao, A. V. Sarode, G. B. Maro // Cancer. Lett. – 1984. – V. 23, № 2. – P. 235–240.

21. Braun R. Genetic effects of isoniazid and the relationship to in vivo and in vitro biotransformation / R. Braun, H. P. Jakel, J. Schoneich // *Mutat. Res.* – 1984. – V. 137, № 2–3. – P. 61–69.
22. Protective effects of thiopronin against isoniazid-induced hepatotoxicity in rats / J. Yue, G. Dong, C. He [et al]. – *Toxicology.* – 2009. – V. 264, № 3 – P. 185–191.
23. Aboul-Ela E. I. Cytogenetic effects of rifampicin in somatic and germinal cells of the mouse / E. I. Aboul-Ela // *J. Appl. Toxicol.* – 1995. – V. 15, № 4. – P. 325–326.
24. Studies on genotoxicity and carcinogenicity of antibacterial, antiviral, antimalarial and antifungal drugs / G. Brambilla, F. Mattioli, L. Robbiano, A. Martelli // *Mutagenesis.* – 2011. – P. 1–27.
25. Шаяхметова Г. М. Вплив етамбутолу на структурно-функціональні показники гонад та фертильність шурів-самців / Г. М. Шаяхметова // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* – 2013. – № 6 (36). – С. 45–50.

Г. М. Шаяхметова

Ушкодження сім'яників шурів після введення протитуберкульозних лікарських засобів у різних комбінаціях

Мета роботи – порівняльне дослідження фертильності, показників сперматогенезу та антенатального розвитку потомства шурів-самців за умов сумісного введення протитуберкульозних засобів у двох комбінаціях, які містили ізоніазид, піразинамід, рифампіцин та етамбутол або стрептоміцин (комбінація 1 та 2 відповідно).

Ступінь деструктивних змін у сперматогенному епітелії за введення протитуберкульозних препаратів в обох комбінаціях був майже на одному рівні, але час рухливості сперматозоїдів після введення комбінацій 1 та 2 знижувався порівняно з контролем на 77 та 34 % відповідно. Осмотична резистентність сперматозоїдів за введення комбінації 1 зменшувалась на 65 %, тоді як комбінація 2 не справляла значного впливу. При застосуванні комбінації 1 підвищувався рівень перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у сім'яниках (15 %) та епідидимісах (38 %), тоді як після введення комбінації 2 було зафіксовано інтенсифікацію ПОЛ лише в сім'яниках. Індекс запліднювальної здатності шурів-самців після введення комбінацій 1 та 2 складав відповідно 9,09 та 78,12 %. У групі самиць, запліднених самцями, що отримували комбінацію 1, рівні до- та післяімплантаційної смертності зростали відповідно у 7 і 24 рази порівняно з контролем, а комбінацію 2 – лише в 2 і 4 рази.

Таким чином, заміна етамбутолу на стрептоміцин певною мірою знижувала токсичну дію протитуберкульозних препаратів на гонади та опосередковані батьком негативні ефекти на потомство. Результати дослідження розширюють теоретичну базу стосовно розуміння механізмів чоловічого безпліддя та розвитку, залежних від батька порушень у нащадків.

Ключові слова: протитуберкульозні засоби, фертильність, сім'яники, шури

А. М. Шаяхметова

Повреждение семенников крыс после введения противотуберкулезных лекарственных средств в различных комбинациях

Цель работы – сравнительное исследование фертильности, показателей сперматогенеза и антенатального развития потомства крыс-самцов при совместном введении противотуберкулезных средств в двух комбинациях, содержащих изониазид, пиразинамид, рифампицин и этамбутол или стрептомицин (комбинация 1 и 2 соответственно).

Степень деструктивных изменений в сперматогенном эпителии при введении обеих комбинаций противотуберкулезных препаратов была почти на одном уровне, но время подвижности сперматозоидов после введения комбинаций 1 и 2 снижалось по сравнению с контролем на 77 и 34 % соответственно. Осмотическая резистентность сперматозоидов при введении комбинации 1 снижалась на 65 %, тогда как комбинация 2 не оказывала значительного влияния. При применении комбинации 1 повышался уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) в семенниках (15 %) и эпидидимисах (38 %), тогда как после введения комбинации 2 была зафиксирована интенсификация ПОЛ только в семенниках. Индекс оплодотворяющей способности крыс-самцов после введения комбинаций 1 и 2 составил соответственно 9,09 и 78,12 %. В группе самок, оплодотворенных самцами, получавшими комбинацию 1, уровни до- и постимплантационной смертности возрастали соответственно в 7 и 24 раза по сравнению с контролем, а комбинацию 2 – только в 2 и 4 раза.

Таким образом, замена этамбутола на стрептомицин в определенной степени снижала токсическое действие противотуберкулезных препаратов на гонады и опосредованные отцом отрицательные эффекты на потомство. Результаты исследования расширяют теоретическую базу относительно понимания механизмов мужского бесплодия и развития, зависящих от отца нарушений у потомков.

Ключевые слова: противотуберкулезные средства, фертильность, семенники, крысы

Надійшла: 07.04.2014 р.

Контактна особа: Шаяхметова Ганна Михайлівна, кандидат біологічних наук, провідний науковий співробітник, відділ загальної токсикології, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потьме, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 0679494530.
Електронна пошта: anna_shayakhmetova@yahoo.com

С. М. Дроговоз¹, В. Д. Лукьянчук², Б. С. Шейман³,
Э. Л. Торяник¹, А. В. Кононенко¹

Опасность передозировки гипотензивных препаратов

¹Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

²Луганский государственный медицинский университет

³Институт экогигиены и токсикологии имени Л. И. Медведя, г. Киев

Ключевые слова: антигипертензивные препараты, передозировка, токсичность

Гипертоническая болезнь – одно из наиболее распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы. По данным ВОЗ в мире каждый 3 взрослый человек имеет повышенное артериальное давление (АД), то есть у более 30 % взрослого населения развитых стран отмечается повышенный уровень АД, а у 15 % – стойкая артериальная гипертензия [1, 2]. Для лечения этого заболевания используется широкий арсенал (более 500 торговых марок) лекарств с разными механизмами действия, большинство из которых отпускается без рецепта. В связи с широким, часто бесконтрольным применением гипотензивных препаратов в последние годы зафиксирован рост острых отравлений этими препаратами [3]. Среди них ведущее место занимают блокаторы кальциевых каналов (БКК), они входят в первую пятерку препаратов, при отравлении которыми наиболее часто (36 %) наступает смерть [4]. Летальность также часто встречается при применении агонистов α_2 -адренорецепторов. Тяжелые отравления ингибиторами АПФ и спазмолитиками отмечаются редко, чаще они наблюдаются при приеме с другими лекарствами [5].

Учитывая опасность передозировки данных групп гипотензивных препаратов, представляет интерес анализ, установление токсикодинамики и факторов риска интоксикации.

Симптоматика интоксикаций при приеме БКК возникает в первые 1–4 ч, а при отравлении препаратами пролонгированного действия признаки токсич-

ческого эффекта могут не проявляться в течение 24 ч [4]. В начальной фазе отравления БКК у пациента возникают нарушения равновесия, цветоощущения (серебряная окраска предметов), сонливость, тошнота и рвота. Причиной изменения цветоощущения при отравлении БКК является нарушение кровотока в сетчатке глаза [6]. Кожа и слизистые оболочки становятся бледными, сухими, зрачки расширены с отсутствием реакции на свет, тонус скелетных мышц и перистальтика кишечника резко снижаются, может наблюдаться олигурия [4]. При отравлении препаратом из группы БКК *верапамилом* происходит замедление синусового ритма, возникает выраженная брадикардия, ослабевает сократительная функция сердца, что проявляется снижением минутного объема крови сердца, диуреза, развиваются «ранний» коллапс, интоксикационный психоз. Развитие интоксикационных психозов при передозировке БКК связано с нарушением синтеза и освобождения медиаторов ЦНС, а также с изменением активности фермента, участвующего в синтезе дофамина – дофамин- β -гидроксилазы [7].

Гипергликемия, вызванная интоксикацией БКК, является результатом снижения секреции инсулина (вследствие блокирования кальциевых каналов в β -клетках поджелудочной железы), а также повышенного высвобождения эндогенных катехоламинов с последующим усилением глюконеогенеза в печени и снижением утилизации глюкозы [8].

Причиной приступов стенокардии является развитие типичного «феномена обкрадывания», а нарушения вну-

трипочечной гемодинамики – следствие дисбаланса между эндогенными вазоконстрикторами (ренином) и вазодилататорами (простагландином E_2), вызванного БКК и приводящего к развитию олигурии [9].

Различают 3 степени отравления БКК. *Легкая степень*: синусовая брадикардия (до 60 уд/мин), умеренная гипотензия (до 100 мм рт.ст.), состояние больного стабильное, сознание ясное. *Средняя степень*: гипотония (от 80 мм рт.ст. и ниже), выраженная синусовая брадикардия, аритмия и другие кардиальные нарушения, которые приводят к ухудшению системной гемодинамики. *Тяжелая степень*: терминальные расстройства гемодинамики, полная атриовентрикулярная блокада, нарушение мозгового кровотока [10].

Кардиальные и гемодинамические симптомы интоксикации БКК связаны с препятствием поступления Ca^{2+} по «медленным» каналам L типа, которые локализованы в структурах сердца, гладкой мускулатуре артерий, в значительно меньшем количестве в гладкой мускулатуре бронхов, кишечника, матки и в тромбоцитах [11].

Токсические эффекты БКК в большей степени проявляются при увеличении температуры окружающей среды. Высокая чувствительность к БКК – среди новорожденных и детей до 1 года. Группу риска составляют также пациенты с заболеваниями сердечно-сосудистой системы. Особенно предрасположены к развитию угрожающих жизни гемодинамических нарушений больные с обструктивной формой гипертрофической кардиомиопатии, у которых снижение системного давления усиливает обструкцию как рефлекторным путем (за счет симпатической стимуляции в раннем периоде интоксикации), так и за счет снижения постнагрузки (на всем протяжении токсикогенной фазы отравления). Также заболеваниями, представляющими группу риска, являются синдром слабости синусового узла, нарушение предсердно-желудочковой проводимости, легочная гипертензия [4].

Отравлению способствует одновременный прием БКК с β -адреноблокато-

рами, сердечными гликозидами, нитратами, диуретиками, дизопирамидом, хинидином, солями лития, этанолом. Все БКК связываются с белками крови, поэтому в случае их назначения с хинидином, сердечными гликозидами, антикоагулянтами, которые способны вытеснять их из комплексов с белками, возможно повышение концентрации антагонистов кальция. Верапамил, нифедипин, имеющие большое сродство с белком и вытесняя из связи с ним любое лекарство, могут усилить токсический эффект, резко увеличив его содержание в крови в свободном состоянии. Дилтиазем следует с осторожностью назначать лицам пожилого возраста с заболеваниями печени и почек. Сочетание между собой препаратов из групп БКК (особенно верапамила, галлопамила, дилтиазема) способствует возникновению брадикардии, нарушению проводимости, сердечной недостаточности [12].

Все БКК подвергаются биотрансформации в печени, и ухудшение ее функции (например, из-за гипоксии) замедляет их элиминацию из организма. При передозировке верапамила, когда ухудшается кровоток в печени и поступление к ней кислорода, метаболизм верапамила нарушается, и период его полувыведения может увеличиваться в несколько раз. Верапамил превращается в норверапамил, который обладает более длительным кардиотоксическим действием. В неизмененном виде выводится только 5 % введенной дозы верапамила [4]. Сочетание БКК с прокаинамидом, хинидином, дизопирамидом, амиодароном усиливает кардиотоксический эффект; комбинация с миорелаксантами приводит к гипотензии, кардиодепрессии, нарушениям ритма сердца; комбинация с глюкокортикоидами, диуретиками, амфотерицином В – к нарушениям сердечного ритма, гипокалиемии [13].

Основными симптомами отравления *периферическими вазодилататорами* являются: гипотензия, рефлекторная тахикардия, метаболический ацидоз, нарушение сознания, гипергликемия, гипертермия, «волчаночный синдром», аллергические реакции (отек суставов,

эритематозные сыпи на коже), анемия, лейкопения, парестезии, полиневриты, головная боль, головокружение, коллапс [8, 9].

При передозировке *диазоксида* может появляться гипокальциемия, гипергликемия, остановка сердца, угнетение дыхания [8]. Головная боль, головокружение, потеря сознания связаны с тем, что при приеме больших доз периферических вазодилататоров происходит перераспределение крови: за счет выраженного уменьшения тонуса сосудов большого круга кровообращения увеличивается кровоток во внутренних органах (почках, легких, сердце) и одновременно понижается внутричерепное давление, что приводит к кратковременной потере сознания и коллапсу [14].

Пульсирующие головные боли связаны также с расширением сосудов за счет выделения гистамина (*гидралазина гидрохлорид* угнетает фермент гистаминазу) [15].

Аутоиммунная реакция «волчаночный синдром» – наиболее грозное осложнение, возникающее при длительном (более 6 мес) применении гидралазина гидрохлорида. Он имеет сходство с системной красной волчанкой и ревматоидным артритом, обусловлен нарушением клеточного иммунитета и образованием IgG-содержащих комплексов (антинуклеарных антител). Наблюдается при дозах выше 200 мг/сут, особенно характерен для «медленных ацетиляторов» гидралазина с наличием антигенов HLA-DRH. Явления поздней интоксикации (анемия, лейкопения, парестезии и полиневриты) развиваются за счет дефицита витамина B₆ в связи с усиленным выделением кофермента пиридоксаль-5-фосфата из организма [3].

Токсичность *нитропруссид* натрия связана с образованием в процессе его метаболизма свободного цианида, концентрация которого выше 120 мг/л в плазме крови считается токсичной. Цианид в митохондриях печени быстро трансформируется ферментом роданезой в тиоцианат. Концентрации цианида и тиоцианата не должны превышать 500 мкг/л и 100 мг/л соответственно.

Тиоцианат в основном выводится почками [11].

Отравления *периферическими вазодилататорами* (гидралазина гидрохлорид, диазоксид, миноксидил, нитропруссид натрия) чаще всего возникают при передозировке вследствие болюсного введения на догоспитальном этапе или длительного инфузионного введения, при котором доза нитропруссид натрия превышает 10–15 мкг/кг/час [3].

«Волчаночный синдром» требует немедленной отмены *гидралазина гидрохлорида* и назначения глюкокортикоидов. Больным с нарушением функции печени и почек ввиду риска кумуляции гидралазина гидрохлорид следует принимать с интервалом в 16 ч [11].

Многолетний опыт применения гипотензивных препаратов определил факторы, повышающие их токсичность. Так, использование *диазоксида* в комбинации с гидралазином потенциально опасно вследствие вероятности резкого падения АД. Его не следует сочетать с диуретиками, так как они вызывают более выраженную гиперурикемию и гипергликемию. У больных, страдающих эпилепсией и принимающих фенитоин, при использовании диазоксида могут вновь появиться судороги. Интоксикация *нитропруссидом натрия* возникает чаще у больных с недостаточностью функции почек, гипотрофией [8].

При передозировке *ингибиторов АПФ* (ИАПФ) возникает ангионевротический отек, орофарингеальный отек с вовлечением языка, а также отек других областей тела [16]. Также наблюдается гипотензия, брадикардия, нарушения электролитного баланса, гиперкалиемия, почечная недостаточность, шок [13]. Блокирование у этих больных ренин-ангиотензиновой системы ИАПФ провоцирует резкое снижение давления в клубочках, интенсивности и скорости фильтрации и этим способствуют развитию почечной недостаточности. Возможно также развитие нефротического синдрома, обусловленного мембранозным гломерулонефритом [17].

ИАПФ необходимо назначать с осторожностью пациентам с вазоренальной гипертензией, поскольку они могут вызвать ухудшение функции почек, в

частности, у лиц с односторонним стенозом почечной артерии. Это объясняется тем, что перфузионное давление в патологической почке зависит от действия локально вырабатываемого ангиотензина [17].

ИАПФ, диуретики и другие антигипертензивные средства в сочетании с приемом алкоголя создают опасность ортостатического коллапса. Необходимо соблюдать осторожность при назначении ИАПФ больным с выраженными нарушениями водно-электролитного баланса, хронической сердечной недостаточностью, аутоиммунными заболеваниями и коллагенозами, церебро-васкулярными заболеваниями (в т. ч. при недостаточности мозгового кровообращения, ИБС), сахарным диабетом, гиперкалиемией, при одновременном назначении глюкокортикостероидов, цитостатиков и антиметаболитов. Сочетание ИАПФ с калийсберегающими диуретиками приводит к увеличению содержания калия в крови – гиперкалиемии, а с петлевыми и тиазидовыми диуретиками, β -адреноблокаторами и другими гипотензивными средствами, нейролептиками (фенотиазидами), нитратами усиливает гипотензивный эффект, возможен коллапс [15].

Нарушение функции почек вплоть до развития почечной недостаточности при интоксикации ИАПФ возникает у больных со значительными водно-натриевыми потерями (строгий бессолевой режим, прием диуретиков), или у больных со стенозом почечных артерий. Повышение концентрации мочевины и креатинина в сыворотке крови связано с приемом больными (параллельно с ИАПФ) мочегонных препаратов; нефротический синдром развивается на фоне протеинурии [8].

Лечение ИАПФ необходимо начинать с малых доз. Для профилактики резкого понижения АД у больных с низким содержанием натрия хлорида и жидкости в организме (рвоте, поносе, приеме диуретиков) перед началом лечения следует провести коррекцию нарушений водно-электролитного обмена путем увеличения объема циркулирующей крови [14].

Передозировка спазмолитиков миотропного действия встречается редко.

Наиболее часто наблюдается передозировка бендазолом, которая проявляется коллаптоидными реакциями, тахикардией. Со стороны ЦНС наблюдается головокружение, потеря сознания. Механизм токсического действия спазмолитиков связан с влиянием препаратов на активность фермента фосфодиэстеразы и накоплением цАМФ [8].

Адреномиметик клонидин (производное имидазолина) – один из представителей группы антигипертензивных нейротропных средств, вызывает тяжелые отравления [17]. Пострадавшие жалуются на ухудшение общего состояния, слабость, вялость, головокружение. Постепенно нарастает угнетение ЦНС от сонливости и сопора до развития комы при тяжелых отравлениях с развитием дыхательной и сердечно-сосудистой недостаточности: ортостатический коллапс, брадикардия, синоатриальная блокада, «выскальзывающие» ритмы, АВ-блокада. Развиваются и нарастают признаки «симпатолитического» синдрома (снижение АД, брадикардия, глухость тонов сердца, повышенная влажность кожи сменяется сухостью кожных покровов и слизистых оболочек, гипотермия, кожа бледная и холодная, миоз, снижение перистальтики – запор). Мидриаз возможен в случаях тяжелых отравлений клонидином или прогрессирования тяжести отравления (нарастание гипоксии). Также наблюдаются гипогликемия (у детей), транзиторные гиперкалиемия и гипернатриемия [10].

Признаком тяжести отравления клонидином является гипоксия без гиперкапнии. Степень снижения АД коррелирует с нарастанием гипоксии [14].

Механизм токсического действия клонидина связан с действием на α_2 -адренорецепторы нейронов сосудодвигательного центра, что вызывает их гиперполяризацию, и на пресинаптические α_2 -адренорецепторы окончаний адренергических нейронов продолговатого мозга (в частности, голубого пятна). При этом освобождение норадреналина устраняет активирующее влияние голубого пятна на сосудодвигательный центр [3].

Вместе с тем клонидин угнетает освобождение норадреналина из мозгового

сложения надпочечников, из адренергических терминалей (реализация механизма отрицательной обратной связи вследствие стимуляции центральных пресинаптических α_2 -адренорецепторов), что сопровождается снижением концентрации катехоламинов в крови [13].

Клонидин при взаимодействии с фторотаном, энфлураном, пентоталом, панкуронием приводит к выраженной гипотензии. При одновременном назначении клонидина с резерпином усиливается сонливость, депрессия, с хинидином – брадикардия. Тяжело протекают комбинированные отравления клонидином и другими веществами депримирующего действия (алкоголь, нейролептики, транквилизаторы) в связи с глубоким угнетением ЦНС. Потенцирование гипотензивных эффектов определяет тяжесть отравлений клонидином в сочетании с мочегонными средствами, вазодилататорами. Сочетание клонидина, сердечных гликозидов, β -адреноблокаторов опасно брадикардией и развитием АВ-блокад. Отравления клонидином неблагоприятны для детей с исходными нарушениями ритма и проводимости сердца [9].

Нейротоксичность *β -адреноблокаторов* проявляется оглушенностью, головокружением, комой, судорогами, сонливостью, симптомами паркинсонизма (резерпин), делирием. Кардиовазотоксические эффекты β -адреноблокаторов: аритмия, синусовая брадикардия, артериальная гипотензия, нарушение сердечной проводимости, кардиогенный шок [8]. Отравление β -адреноблокаторами способствует бронхоспазму, развитию гипоксии и метаболических нарушений (гипогликемия, гипокалиемия). Токсическое действие на ЖКТ проявляется тошнотой, рвотой, диареей при сохраненной перистальтике. Для отравлений *адреноблокаторами* характерны слабость и повышенная влажность кожи, гипотермия (особенно под влиянием *β -адреноблокаторов*), также ее покраснение, зуд (в большей степени под действием *α -адреноблокаторов*) [18].

α - и β -адреноблокаторы при сочетании с ингибиторами МАО могут вызвать инсульт, отек мозга, сердечные аритмии, гипертонический криз.

α -Адреноблокаторы при одновременном применении с β -адреноблокаторами, антагонистами кальция, диуретиками приводят к риску резкого падения АД. У больных сахарным диабетом β -адреноблокаторы усиливают и prolongируют гипогликемию, вызванную инсулином. При комбинации сахароснижающих средств и β -адреноблокаторов возможен риск гипогликемической комы [10].

β -Адреноблокаторы в сочетании с противоаритмическими средствами приводят к нарушению сердечного ритма, коллапсу, а комбинация их с сердечными гликозидами дает выраженную брадикардию. Взаимодействие β -адреноблокаторов с клонидином приводит к резкому снижению АД, брадикардии [8].

Антигистаминные средства и нейролептики в сочетании с *β -адреноблокаторами* приводят к желудочковым аритмиям.

Пропранолол, празозин имеют большое сходство к белку, вытесняя из связи с ним любое лекарство, и могут усилить его токсический эффект [16]. Одновременное применение бисопролола и йодсодержащих лекарственных средств повышает риск развития анафилаксии. Совместное назначение бисопролола, карведилола и антиаритмических средств увеличивает риск развития сердечной недостаточности [8].

Липидорастворимые *β -адреноблокаторы* быстро проникают в органы и ткани, в том числе и в ЦНС, поэтому при отравлении ими часто имеют место нейротоксические эффекты. С белками плазмы лучше всего связываются пропранолол и окспренолол (90 %), атенолол и соталол связываются с ними в меньшей степени (8 %). Эти особенности необходимо учитывать при использовании методов экстракорпоральной детоксикации (гемодиализ, гемосорбция и др.) в лечении отравления, поскольку, чем прочнее связь с белками, тем меньше эффективность целого ряда методов детоксикационной терапии [13].

Резерпин нарушает транспорт катехоламинов (дофамина, норадреналина и серотонина) в пресинаптических окончаниях симпатических нервов

вследствие уплотнения их мембран и снижения активности транслоказы, переносящей дофамин в везикулы. Нарушение процессов транспорта и депонирования дофамина в нейронах ЦНС сопровождается возникновением симптомов паркинсонизма [3].

Первые признаки отравления резерпином могут появиться через 5–7 ч: возбуждение, эйфория. При сохраненном сознании дети жалуются на чувство заложенности носа, затрудненное носовое дыхание, боли в животе. Клинически определяются гнусавость голоса, отечность лица, признаки холинергического синдрома (брадикардия, снижение АД, миоз, гипергидроз, усиление перистальтики кишечника). Кожа влажная, гиперемирована, теплая на ощупь, температура тела повышена, склеры инъецированы. Диспептические явления (боли в животе, рвота, диарея) возникают в результате сочетания холинергических эффектов (усиление перистальтики) и одновременного высвобождения гистамина и гастрина клетками слизистой оболочки желудка [10].

Отравленные резерпином дети сонливы, адинамичны. Наблюдается шаткость походки, тремор пальцев рук и другие явления паркинсонизма. Нарастает угнетение ЦНС, оглушенность сменяется сомнолентностью, сохраненными или повышенными спинно-мозговыми рефлексами. В дальнейшем развивается кома, сопровождающаяся клоникотоническими судорогами. Состояние обостряется развитием ортостатического коллапса [9].

Резерпин усиливает эффекты средств, угнетающих ЦНС, β -адреноблокаторов, гипотензивных препаратов; учащает побочные реакции сердечных гликози-

дов. Одновременное назначение резерпина и ингибиторов MAO может вызвать более выраженное падение АД, чем при приеме каждого препарата в отдельности [13].

Иногда токсические дозы резерпина вызывают развитие резкого возбуждения, возможны галлюцинации, кома. Резерпин снижает АД, угнетает функции сердца, суживает коронарные артерии (возможны загрудинные боли). Отмечается нарушение реологических свойств мокроты, что сопровождается развитием пневмоний. При отравлении резерпин увеличивает секрецию антидиуретического гормона. Это сопровождается задержкой жидкости, увеличением концентрации Na^+ в организме. В условиях развития холинергического синдрома (с явлениями брадикардии) велика опасность возникновения отека легких [15].

Таким образом, анализ токсикодинамики, механизма развития интоксикации и факторов, способствующих отравлению гипотензивными препаратами, являются этиопатогенетической основой для диагностики отравлений и мер профилактики этих состояний. При передозировке гипотензивными препаратами основными симптомами являются коллапс, брадикардия, потеря сознания, сонливость (исключение составляет резерпин), гипоксия, почечная недостаточность (БКК, периферические вазодилататоры, ИАПФ), гипергликемия (БКК, периферические вазодилататоры, клонидин, β -адреноблокаторы), брадикардия (БКК, ИАПФ, клонидин, β -адреноблокаторы, резерпин), тахикардия, потеря сознания (периферические вазодилататоры, спазмолитики), сонливость, тошнота, рвота (БКК, β -адреноблокаторы).

1. Спирингс Д. Экстренная медицина. Практическое руководство по диагностике и лечению неотложных состояний / Д. Спирингс, Дж. Чамберс. – М. : Медицинская литература, 2006. – 544 с.
2. Астахова А. В. Неблагоприятные побочные реакции и контроль безопасности лекарств: Руководство по фармадзору / А. В. Астахова, В. К. Лепяхин. – М. : Когито центр, 2004 – 200 с.
3. Граник В. Г. Лекарственная токсикология: монография / В. Г. Граник. – М. : Вузовская книга, 2009. – 440 с.
4. Карпов Ю. А. Антагонисты кальция – препараты первой линии в современной кардиологии (2 часть) / Ю. А. Карпов, Г. Н. Соболева // Тер. Арх. – 1997. – № 1. – С. 74–78.
5. Секреты токсикологии: пер. с англ. / Д. Луис, Ф. Ричард, Б. Тимоти, Джон Х. Трестрейл III. – М.-СПб. : Изд. Бином – Диамант, 2006. – 376.
6. de Vries R. J. Efficacy and safety of calcium channel blockers in heart failure: focus on recent trials with second-generation dihydropyridines / R. J. de Vries, D. J. van Veldhuisen, P. H. Dunselman // Am Heart J. – 2000. – V. 139. – P. 185.

7. Salhanick S. D. Management of calcium channel antagonist overdose / S. D. Salhanick, M. W. Shannon / Drug Saf. – 2003. – V. 26 (2). – P. 65.
8. Побочное действие лекарств: учебник-справочник / С. М. Дроговоз, А. П. Гудзенко, Я. А. Бутко, В. В. Дроговоз – Х., 2012. – 480 с.
9. Куценко С. А. Основы токсикологии / С. А. Куценко. – СПб., 2009 – 510 с.
10. Линден К. Отравления. From Harrison's Principles of Internal Medicine. 14-th edition / К. Линден, Ф. Лавджой-мл. – 2006. – 6520 с.
11. Гуськова Т. А. Токсикология лекарственных средств / Т. А. Гуськова. – М. : Издательский дом «Русский врач», 2003. – 154 с.
12. Critical care management of verapamil and diltiazem overdose with a focus on vasopressors: a 25-year experience at a single center / M. Levine, S. C. Curry, A. Padilla-Jones, A. M. Ruha // Ann Emerg Med. – 2013. – V. 62 (3). – P. 252–258.
13. Фармакология в помощь студенту, провизору и врачу: учебник-справочник / Дроговоз С. М., Штрыголь С. Ю., Щекина Е. Г. – Х. : Титул, 2013. – 900 с.
14. Атлас Фармакология – наглядно (Фармакология в таблицах, схемах и рисунках для иностранных студентов): Учебное пособие / С. М. Дроговоз, И. М. Рыженко, В. П. Верейтинова [и др.]. – Х., 2014. – 204 с.
15. Компендиум. Справочник. – К. : Морион, 2012. – 879 с.
16. Effect of renin-angiotensin system blockade on calcium channel blocker-associated peripheral edema / H. Makani, S. Bangalore, J. Romero [et al.] // Am J. Med. – 2011. – V. 124 (2). – P. 128.
17. Vidal 2012. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. – М. : АстраФармСервис, 2012. – 1698 с.
18. Sirak T. E. Therapeutic update: non-selective beta- and alpha-adrenergic blockade in patients with coexistent chronic obstructive pulmonary disease and chronic heart failure / T. E. Sirak, S. Jelic, T. H. Le Jemtel // J. Am Coll Cardiol. – 2004. – V. 44 (3). – P. 497.

С. М. Дроговоз, В. Д. Лук'яничук, Б. С. Шейман, Е. Л. Торяник, А. В. Кононенко
Небезпека передозування гіпотензивних препаратів

Гіпертонічна хвороба – одне з найпоширеніших захворювань серцево-судинної системи. Для лікування цього захворювання є велика кількість ліків з різним етіопатогенетичним механізмом дії, більшість з яких відпускається без рецепта. У зв'язку з широким застосуванням гіпотензивних препаратів останніми роками зафіксовано зростання гострих отруєнь цими препаратами. Провідне місце займають отруєння блокаторами кальцієвих каналів (БКК) та агоністами α_2 -адренорецепторів, при отруєнні якими найчастіше настає смерть. Багаторічний досвід застосування гіпотензивних препаратів дозволив визначити чинники, що підвищують їхню токсичність.

Аналіз токсикодинаміки, механізму розвитку інтоксикацій та факторів ризику отруєнь гіпотензивними препаратами сприятиме розробці заходів лікування та профілактики цих станів.

Ключові слова: антигіпертензивні препарати, передозування, токсичність

S. M. Drogovoz, V. D. Lukyanchuk, B. S. Sheiman, E. L. Toryanik, A. V. Kononenko
The risk of overdose of antihypertensive drugs

Arterial hypertension is one of the most common diseases of the cardio-vascular system. For the treatment of this disease exist a large number of drugs with different etiopathogenetic mechanisms of action, most of which is available without prescription. Due to the extensive use of antihypertensive drugs in recent years, recorded an increase of acute poisoning with these drugs. Among them the leading place belongs to calcium channel blockers (CCBs) and α_2 -adrenoceptor agonists which poisoning leads to frequently death. Severe poisoning with ACE inhibitors and antispasmodics are rare, but they can be observed especially when taken in combination with other medications.

Years of experience with antihypertensive drugs administration allowed us to identify factors that increase their toxicity. Poisoning promotes simultaneous administration of CCBs with β -blockers, cardiac glycosides, nitrates, diuretics, disopyramide, quinidine, lithium salts, ethanol. ACE inhibitors may cause deterioration in renal function in patients with renovascular hypertension. Lipid-soluble β -blockers quickly penetrate into the organs and tissues, including the central nervous system, so they are often at a poisoning occur neurotoxic effects.

Thus, the analysis toxicodynamics, appearance of intoxication mechanism and the factors contributing to the poisoning of antihypertensive drugs are the mainstay of etiopathogenetic care and prevention of these conditions.

Key words: antihypertensive drugs, overdose, toxicity

Надійшла: 13.02.2014 р.

Контактна особа: Дроговоз Світлана Мефодіївна, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Мельникова, м. Харків, 61002. Тел.: +38 057 706 30 69. Електронна пошта: DrogovozSM@mail.ru

Л. М. Шеремета

Гепатотоксичність лікарських засобів при клінічному застосуванні

Івано-Франківський національний медичний університет

*Ключові слова: побічна дія ліків,
гепатотоксичність*

Індуковані ліками пошкодження печінки виникають доволі часто, але діагностика та статистичний облік їх в Україні, як у світі в цілому, є недостатніми. Пояснюється така ситуація низкою причин:

- подібністю клініки до гепатитів іншого походження;
- часто віддаленим (через декілька тижнів чи місяців від початку лікування) розвитком ураження;
- малосимптомним перебігом із незначними диспепсичними розладами;
- недостатньою настороженістю лікарів та поверхнево зібраним анамнезом (у тому числі, сімейним);
- недоступністю відповідних методів діагностики;
- небажанням подавати повідомлення про побічну дію/реакцію (ПД/ПР) ліків;
- недостатніми знаннями фармакології та можливих побічних реакцій лікарських засобів (ЛЗ) та ін.

За даними літератури, найчастіше спостерігаються пошкодження печінки:

– при тривалому курсовому застосуванні в терапевтичних дозах цитостатиків (метотрексат) [2], туберкулостатиків (рифампіцин, ізоніазид, піразинамід) [1], статинів (ловастатин) [3], оральних контрацептивів, антиконвульсантів (карбамазепін, фенітоїн, ламотриджин, вальпроати) [4], антиаритмічних засобів (аміодарон) [5];

– при застосуванні високих доз (або при збільшенні їх) парацетамолу [6], сульфаніламідів, тетрациклінів [7], НПЗЗ (диклофенак) [8] та ін.

Сьогодні відомо понад 900 ліків з

доведеною гепатотоксичною дією, хоча більшість ЛЗ викликають пошкодження печінки нечасто. Такі реакції, викликані ідіосинкразією, можуть мати імунологічний або метаболічний механізм розвитку, виникають при застосуванні препаратів у терапевтичних дозах із частотою від 1 на кожну 1000 до 1 на кожні 100 000 пацієнтів. Реакції ідіосинкразії характеризуються сповільненим розвитком або латентним періодом від 5 до 90 днів від початку прийому препарату і часто бувають фатальними, якщо після початку реакції препарат продовжують приймати [9].

Водночас відомо, що легкі форми уражень, викликані ізоніазидом, можуть проходити, незважаючи на продовження його прийому, особливо в «швидких» ацетиляторів [1]. Ризик виникнення ураження печінки ЛЗ пов'язаний з такими факторами, як генетичний статус, вік, стать, індекс маси тіла, хронічні захворювання гепатобіліарної системи чи нирок, вагітність, а також з дозою, тривалістю лікування, поліпрагмазією чи вживанням алкоголю під час лікування [10]. Реакції, що виникають внаслідок ураження печінки ЛЗ, різноманітні: гострий некроз гепатоцитів, гострий або хронічний гепатит, стеатогепатоз, холестаз (каналцевий, паренхіматозно-каналцевий чи внутрішньопротоковий), застій жовчі (сладж), мітохондріальні цитопатії, судинні пошкодження (пеліоз та венооклюзійна хвороба), пухлини. Гістологічні зміни при біопсії печінки теж різноманітні та характерні для кожного препарату або фармакологічної групи [5]. Ряд подій, які спочатку включають внутрішньоклітинне руйнування, некроз клітин або апоптоз з наступною активацією імунної системи, можуть пояснити особливості реакцій ідіосинкразії на ліки: їхня рідкість,

тяжкість та перебіг, незважаючи на продовження приймання препаратів пацієнтами з фенотипами, що здатні адаптуватись.

Мета дослідження – проаналізувати та верифікувати частоту розвитку гепатотоксичних реакцій, що розвинулись у пацієнтів, лікованих препаратами різних фармакологічних груп залежно від дозування та тривалості лікування (за даними повідомлень – форма 137/о).

Матеріали та методи. Проаналізовано 2682 спонтанних повідомлення (форма №137/о) про побічну реакцію (ПР) ЛЗ, що були надіслані до Івано-Франківського РВ ДЕЦ МОЗ України, для чого використано статистичні та бібліографічний методи.

Результати та їх обговорення. Аналіз повідомлень, отриманих за 10 років (2002–2012 рр.), показав, що за цей період не спостерігалось тяжких та смертельних випадків гепатотоксичності. Переважна більшість повідомлень, у яких можна запідозрити розвиток гепатотоксичності, містила інформацію щодо застосування в пацієнта від 3 до 5 препаратів, скарги на диспепсичні розлади різної вираженості, а біохімічні дослідження активності печінкових трансаміназ зазначені тільки в повідомленнях із обласного фтизіопульмоцентру та обласного онкологічного диспансеру (таблиця).

Таким чином, можемо говорити про 2,24 % ПР із лабораторно підтвердженим і встановленим причинно-наслідковим зв'язком у розвитку гепатотоксичності при застосуванні відомих за такою властивістю ліків: ізоніазиду, піразинаміду, рифампіцину, метотрексату. Тривалість лікування зазначеними ЛЗ до появи ПР у зазначених випадках була від 7 днів до 5 місяців. Більш швидкий розвиток реакції, що супроводжувався суттєвим збільшенням рівня АлАТ, був відмічений при застосуванні антибіотика цефалоспоринового ряду празону-С (АТС: J01DD62 – цефоперазон із сульбактамом) – 5 днів від початку лікування, а при застосуванні доксицикліну на 3 день від початку лікування описаний розвиток диспепсичних розладів у вигляді втрати апетиту, нудоти та важкості в правому підбер'ї – у 3 випадках. Кількість повідомлень про алергічні реакції на парацетамол, як моно препарат, так і в складі комбінованих ЛЗ, становить 26 випадків, але в жодному з них не йдеться про порушення функції печінки чи диспепсичні розлади. Зрозуміло, що цей препарат викликає дозозалежну гепатотоксичність, водночас відомо й про випадки ураження печінки терапевтичними дозами (4,0–6,0 г на день) за умов обмеженого харчування (постування), одночасного прийому препаратів – індукторів

Таблиця

Частота виникнення гепатотоксичних та диспепсичних реакцій

Рік	Загальна кількість повідомлень (абс.)	Гепатотоксичність, яка підтверджена лабораторно (абс.)	Повідомлено про клінічні прояви (абс.)
2002	55	0	2
2003	152	3	5
2004	178	6	12
2005	160	5	5
2006	189	5	6
2007	176	7	14
2008	391	6	10
2009	296	5	11
2010	330	9	14
2011	318	6	21
2012	437	8	7
Усього	2682	60	107
%	100	2,24	3,99

ферментів системи цитохрому Р-450 чи систематичного вживання алкоголю [11]. Усі описані ПР, що виникли при застосуванні терапевтичних доз, у 20 % пацієнтів завершилися відміною препарату, у 8% – відміною супутніх ЛЗ, у 23 % було необхідним подовження госпіталізації, у 84 % випадків застосовували медикаментозну корекцію.

Оскільки протягом аналізованих 10 років лише 23–46 % лікувально-профілактичних закладів Івано-Франківської області надавали повідомлення про ПД ліків, то, вочевидь, ми не можемо достовірно оцінити ситуацію щодо справжньої частоти виникнення гепатотоксичних реакцій у пацієнтів, котрі отримують фармакотерапію.

Висновки

1. Частоту розвитку гепатотоксичної побічної дії при застосуванні ЛЗ у терапевтичних дозах частіше спостерігали в пацієнтів, що отримували тривале курсове лікування цитостатиками та туберкулостатичними препаратами. Верифікація пошкодження печінки ЛЗ проведена лише в 2,24 % випадків біохімічними тестами (АлАТ, АсАТ).

2. Диспепсичні порушення, що описані в повідомленнях і можуть бути проявами ураження печінки, відзначені в 3,99 % випадків при курсовому застосуванні доксицикліну, піразинамід (пайзину), гатіфлоксацину, пасконату в терапевтичних дозах, що можливо пояснюється кумулятивною дозою препаратів.

1. *Tasduq Sheikh A.* Biochemical manifestations of anti-tuberculosis drugs induced hepatotoxicity and the effect of silymarin / Sheikh A. Tasduq, Kaiser Peerzada, Supriya Koul. // *Hepatology Research.* – 2005. – V. 31, Issue 3. – P. 132–135.
2. <http://livertox.nih.gov/Methotrexate.htm>
3. *Pelli N.* Atorvastatin as a trigger of autoimmune hepatitis / Pelli N., Setti M. // *J. Hepatology.* – 2004. – V. 40. – P. 716.
4. Acute hepatitis associated with lamotrigine and managed with the molecular adsorbents recirculating system (Mars) / Mecarelli O, Pulitano P, Mingoia M, [et al.] // *Epilepsia.* – 2005. – V. 46. – P. 1687–1689.
5. <http://livertox.nlm.nih.gov/Amiodarone.htm>
6. Acetaminophen-induced hepatotoxicity / Laura P. James, Philip R. Mayeux, Jack A. Hinson // <http://dmd.aspetjournals.org/content/31/12/1499>
7. *Navarro Victor J.* Drug-Related Hepatotoxicity / Victor J. Navarro, John R. Senior // *N Engl J. Med.* – 2006. – V. 354. – P. 731–9.
8. <http://livertox.nlm.nih.gov/Diclofenac.htm>
9. *Lee William M.* Drug-Induced Hepatotoxicity/ William M. Lee // *N Engl J. Med.* – 2003. – V. 349. – P. 474–485.
10. *Hunt C. M.* Effect of age and gender on the activity of human hepatic CYP3A / Hunt C. M., Westerkam W. R., Stave G. M. // *Biochem Pharmacol.* – 1992. – V. 44. – P. 275–283.
11. *Kurtovic J.* Paracetamol-induced hepatotoxicity at recommended dosage / J. Kurtovic, S. M. Rioridan // *Journal of Internal Medicine.* – 2003. – V. 253, Issue 2. – P. 240–243.

Л. М. Шеремета

Гепатотоксичність лікарських засобів при клінічному застосуванні

Моніторинг побічної дії ліків, який здійснюється в світі та в Україні протягом останніх десятиліть, суттєво розширив знання медиків про можливі ускладнення фармакотерапії, зокрема – гепатотоксичну дію ліків. За даними спонтанних повідомлень лікарів Івано-Франківської області, отриманих співробітниками регіонального відділення Державного експертного центру МОЗ України за 2002–2012 роки, про виникнення симптомів, що вказували на розвиток гепатотоксичності, сповіщалося у 6,2 % від загальної кількості повідомлень. Із них тільки невелику частину було підтверджено біохімічними дослідженнями (різке збільшення активності трансаміназ), а решта обґрунтована скаргами пацієнтів та клінічною картиною (втратою апетиту, диспепсичними розладами, болем і тяжкістю в правому підребер'ї). У жодному із повідомлень не зазначено результатів інструментальних (УЗД, комп'ютерної томографії чи МРТ) або гістологічних (біопсія печінки) досліджень. Частоту розвитку гепатотоксичної побічної дії при застосуванні ЛЗ у терапевтичних дозах частіше спостерігали в пацієнтів, що отримували тривале курсове лікування цитостатиками та туберкулостатичними препаратами. Верифікація пошкодження печінки ЛЗ проведена лише в 2,24 % випадків біохімічними тестами (АлАТ, АсАТ). Диспепсичні порушення, що описані в повідомленнях і можуть бути проявами ураження печінки, відзначені в 3,99 % випадків при курсовому застосуванні доксицикліну, піразинамід (пайзину), гатіфлоксацину, пасконату в терапевтичних дозах, що можливо пояснюється кумулятивною дозою препаратів.

Ключові слова: побічна дія ліків, гепатотоксичність

Гепатотоксичность лекарств при их клиническом применении

Мониторинг побочного действия лекарств, который осуществляется в мире и в Украине в течение последних десятилетий, существенно расширил знания медиков о возможных осложнениях фармакотерапии, в частности о гепатотоксическом действии лекарств. По данным спонтанных сообщений врачей Ивано-Франковской области, полученным сотрудниками регионального отделения Государственного экспертного центра МЗ Украины в 2002–2012 годах, о возникновении симптомов, указывающих на развитие гепатотоксичности, было сообщено в 6,2 % случаев от общего количества (2682). Из них только треть была подтверждена биохимическими исследованиями (резкое увеличение уровня трансаминаз), а остальные – обоснованы жалобами пациентов и клинической картиной (потерей аппетита, диспептическими расстройствами, болью и тяжестью в правом подреберье). Ни в одном из сообщений не указаны результаты инструментальных (УЗИ, компьютерной томографии или МРТ) или гистологических (биопсия печени) исследований. Частоту развития гепатотоксического побочного действия при применении ЛЗ в терапевтических дозах чаще наблюдали в пациентов, которые получали длительное курсовое лечение цитостатиками и туберкулостатическими препаратами. Верификация поражения печени ЛС проведена только в 2,24 % случаев биохимическими тестами (АлАТ, АсАТ). Диспептические расстройства, которые описаны в сообщениях, могут быть проявлениями поражения печени, отмечены в 3,99 % случаев при курсовом применении доксициклина, пипразинамида (пайзина), гатифлоксацина, пасконата в терапевтических дозах, что можно объяснить кумулятивной дозой препаратов.

Ключевые слова: побочное действие лекарств, гепатотоксичность

L. M. Sheremeta

Hepatotoxicity of drugs in their clinical application

Monitoring of adverse drug effects carried out worldwide and in Ukraine over the past decades, significantly expanded the physicians knowledge about possible complications of pharmacotherapy, in particular – hepatotoxic effects of drugs. According to spontaneous reports of Ivano-Frankivsk region doctors that received in the regional branch of the State Expert Center of the Ministry of Health of Ukraine for 2002–2012 years, the emergence of symptoms that indicated to the development of hepatotoxicity was reported 6.2 % of the total (2682 reports). Only 2.24% of them amount were confirmed by biochemical tests (sharp increase in aminotransferases levels) and a causal link in the development of hepatotoxicity in the application of the isoniazid, pyrazinamide, rifampicin, methotrexate was established, and the rest – based on the patient's complaints and symptoms (loss of appetite, dyspepsia, pain and heaviness in the right subcostal area. According to reported cases the development of adverse reactions observed in various periods of treatment: from 7 days to 5 months.

All described events encountered in the application of therapeutic doses, 20 % of patients completed removal of the drug, 8 % – the abolition of related drugs, in 23 % prolongation of hospitalization was necessary. In 84 % of cases pharmacological correction was used. 3.99 % reported cases of dyspeptic disorders probably caused by drug-induced liver damage were observed during the course of treatment with doxycycline, pyrazinamide, gatifloxacin and PAS used in average doses which may be explained by a cumulative dose of drugs.

None of the reports indicated the results ultrasound, CT or MRT diagnostics or histologic characteristics (liver biopsy).

Key words: adverse drug effect, hepatotoxicity

Надійшла: 09.04.2014 р.

Контактна особа: Шеремета Лідія Миколаївна, доктор медичних наук, кафедра фармакології, Івано-Франківський національний медичний університет, буд. 2, вул. Галицька, м. Івано-Франківськ, 76000. Тел.: +38 0 50 579 74 64. Електронна пошта: sheremetalm@gmail.com

Н. В. Добреля, Є. В. Стрелков, Т. А. Бухтіарова

Розвиток європейського законодавства в сфері використання тварин у наукових експериментах

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: етика, лабораторні тварини, наукові дослідження

Сучасне суспільство прагне гуманізувати наукові дослідження, заохочує зменшення кількості тварин, які використовуються в експериментах, та застосування альтернативних методів. Але використання традиційних експериментів на тваринах складає значну частину досліджень у фармакології. Зокрема, у Великобританії кількість тварин, задіяних в експериментах у 2012 році, зросла на 8 % порівняно з 2011 роком [1]. Ці випробовування проводяться з урахуванням етичних та морально-правових принципів, які гарантують захист інтересів суб'єктів дослідження, тобто забезпечення гуманного поводження з експериментальними тваринами та раціональне їхнє використання з науковою та навчальною метою. Документи, що регламентують використання лабораторних тварин, діють на різних рівнях. До міжнародних документів відносяться Міжнародні рекомендації з проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин, затверджені Всесвітньою організацією охорони здоров'я в 1984 році, та Європейська конвенція щодо захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою. Прикладом законодавчих актів окремих країн є US Federal Animal Welfare Act, що регулярно переглядається, або Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV, прийнятий у 2006 році.

У вересні 2010 року Європейським парламентом була прийнята Директива № 2010/63/ЄС про захист тварин, що використовуються з науковою метою [2]. Директива була створена в процесі перегляду аналогічного документа, що діяв дотепер – Директиви № 86/609/ЄЕС [3]. Остання була прийнята в 1986

році Європейським Економічним Співтовариством (ЄЕС), і регулювала, у першу чергу, аспекти, пов'язані з торгівлею тваринами, а також була спрямована на гармонізацію норм використання тварин в експерименті в межах ЄЕС. На час створення першої Директиви в Європейському Союзі не було загального закону, який визначав би правила проведення експериментів з використанням тварин, тож вона встановлювала найнеобхідніші стандарти щодо умов утримання та використанням лабораторних тварин, моніторингу експериментів, а також кваліфікації персоналу, що працює з тваринами.

Підставою для оновлення документа стали нові наукові дані щодо можливості зменшення кількості тварин в експерименті, мінімізації болю, стресу, страждань, що можуть бути завдані тваринам, удосконалення технології проведення експерименту, уживання знеболюючих засобів при проведенні хірургічних процедур, прийняття науково обґрунтованих норм харчування та умов утримання, точної оцінки фізіологічного стану тварин під час експерименту. Метою розробників був пошук балансу між принципами біоетики та наукою, що активно розвивається, з урахуванням ризиків щодо здоров'я людей, тварин та захисту навколишнього середовища. Зміст Директиви повністю відповідає принципу трьох «R», який був сформульований Расселом і Берчем у 1959 році [4]. Оскільки сучасна наука не в змозі повністю відмовитися від досліджень з використанням тварин, необхідно прагнути до зменшення кількості тварин в експерименті («education»), покращання умов їхнього утримання та використання («refinement»), заміни нижче організованими тваринами або альтернативними об'єктами та методами («replacement»).

Розглянемо основні відмінності нового документа.

Порівняно з попереднім документом відбулося значне посилення заходів з охорони тварин, що використовуються з науковою та освітньою метою. Сфера дії Директиви розширена і включає окрім наукових досліджень ще освіту (стаття 1). Відбулося поширення дії директиви на головоногих молюсків, на личинкові форми хребетних, що самостійно харчуються, та на зародкові форми ссавців останнього триместру розвитку (стаття 1). Практично заборонене використання диких тварин (стаття 9) та таких, що перебувають під загрозою зникнення видів (стаття 7), бродячих або диких тварин (стаття 11). Суворо обмежене використання в експериментах приматів. При цьому, однак, примати можуть бути задіяні в експериментах, якщо мова йде про збереження виду, попередження/подолання епідемій, що становлять загрозу для життя, або при вивченні небезпечного для життя або ослабленого клінічного стану людини (статті 8, 55). У цих випадках має бути науково доведено, що використання інших видів не може забезпечити досягнення мети експерименту. Тут варто зауважити, що на думку деяких вчених, формулювання «ослаблений клінічний стан», як стан, при якому зменшена здатність людського організму нормально функціонувати, передбачає певні можливості для спекуляцій [5].

Згідно з Директивою 2010/63/ЄС кожна держава ЄС має призначити Державну комісію з охорони тварин, яких використовують з науковою метою, та один або кілька «компетентних органів», що уповноважені державою забезпечувати виконання вимог Директиви. Ці органи проводять системну оцінку наукових проектів, у тому числі й нетехнічну, та видають дозвіл на їхнє виконання, а також на роботу з тваринами розплідникам, постачальникам (статті 20–21) та науковцям (стаття 36).

Для отримання дозволу на виконання досліджень особі, що відповідає за проект, необхідно надати компетентному органу такі документи (стаття 37):

- план проекту;
- нетехнічне резюме проекту – анонімний документ, що містить таку

інформацію: мета проекту, включно з передбачуваними шкодою та користю, докази відповідності вимогам принципів «3R», необхідність проведення підсумкової оцінки; ці документи необхідно публікувати в країнах ЄС, якщо проект буде схвалено;

- інформацію з таких питань: значимість і обґрунтованість як використання тварин, включаючи їх походження, кількість, вид і стадію розвитку, так і запланованих процедур; застосування принципів «3R» щодо тварин; використання анестезії або знеболювання; зменшення, запобігання або полегшення будь-яких форм страждань тварин протягом життя, якщо це можливо; гуманні кінцеві точки, включаючи методи евтаназії у випадку необхідності; застосування експериментальних стратегій і статистичних методів, що зменшують кількість використаних тварин та знижують рівень болю, страждань і запобігають впливу процедур на оточуюче середовище; повторне використання тварин; передбачувана класифікація процедур за ступенем тяжкості; запобігання дублювання процедур; умови утримання та догляду за тваринами; компетентність осіб, що беруть участь у проекті.

Видача дозволу на виконання проекту ґрунтується на його відповідності критеріям, за якими компетентний орган проводить оцінку і які детально прописані в Директиві.

Директива вводить більш жорсткі вимоги до розплідників, постачальників і установ, які використовують тварин. Якщо раніше нижчевикладені положення носили рекомендаційний характер, то в новій Директиві вони є стандартами, що мають юридичну силу. Відповідно до статті 20, усі зацікавлені особи і установи мають отримувати дозволу на роботу з тваринами. Дозволи видаються «компетентними органами», і їхня дія може бути припинена в разі виявлення порушень Директиви. У статті 22 і додатку 3 перераховані вимоги до догляду й утримання тварин в установі, включаючи приміщення, обладнання, контроль середовища проживання, збагачення середовища. Посилено вимоги до компетенції та кваліфікації персоналу, що працює з тваринами, включаючи

призначеного ветеринарного лікаря чи експерта з питань ветеринарії (статті 23–25). Передбачено декілька рівнів аудиту виконання вимог Директиви, а саме: державні інспекції розплідників, постачальників та установ, що використовують лабораторних тварин, та контроль за державними інспекціями.

В установах передбачено створення спеціальної групи, що займається наглядом за умовами утримання тварин та консультує співробітників з відповідних питань. Ця група має слідкувати за ходом і результатами проектів на рівні установи, сприяти формуванню необхідного для ефективного догляду за тваринами навколишнього середовища та забезпечувати механізми впровадження технічних і наукових інновацій в сфері застосування принципів «3R» та покращання умов утримання тварин (статті 26–27). Основним напрямом діяльності цієї групи має бути забезпечення добробуту тварин.

Таким чином, з політичних міркувань відмовившись від слова «етична» при створенні нового документа [6], Європейський Парламент і Рада Європейського Союзу встановлюють загальноєвропейські норми експертизи наукових проектів з використанням тварин. Відповідно до статті 7 Директиви 86/609/ЄЕС раніше такі проекти розглядалися згідно з місцевим законодавством.

Деякі зміни пройдуть і на місцевому рівні – комітети з етики (Ethical Review Processes (ERP) будуть доповнені комітетами з добробуту тварин (Animal Welfare Bodies (AWBs)). Таким чином, проходить поступове зміщення акценту в діяльності локальних комітетів з системи моральних норм людини на значимість життя і здоров'я тварини.

Щодо вітчизняного законодавства, тут теж спостерігаються зміни, але дати однозначну оцінку їм важко. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV [7] був прийнятий у 2006 році і пройшов декілька редакцій. Змінився і текст статті № 26 Правила поводження з тваринами, що використовуються в наукових експериментах, тестуванні, навчальному процесі, виробництві біологічних препаратів. У першій редакції пункти 3 і 4 статті звучали таким чином:

Робота з експериментальними тваринами може проводитися за наявності дозволу на проведення такого виду діяльності, що видається Комітетом з питань етики (біоетики) центрального органу виконавчої влади з питань науки та освіти.

Комітет з питань етики (біоетики) діє на підставі положення, затвердженого центральним органом виконавчої влади з питань науки та освіти.

Редакція Закону від 18 листопада 2012 року не передбачає експертизу досліджень, що проводяться з використанням тварин:

Робота з експериментальними тваринами може проводитися за наявності дозволу на проведення такого виду діяльності, що видається центральним органом виконавчої влади, який реалізує державну політику у сфері наукової діяльності.

{Частина третя статті 26 зі змінами, внесеними відповідно до Закону від 16.10.2012 р. № 5456-VI (5456-17)}

{Частина четверту статті 26 виключено на підставі Закону від 16.10.2012 р. № 5456-VI (5456-17)}

Закон України «Про внесення змін до деяких законодавчих актів України щодо оптимізації повноважень органів виконавчої влади у сфері екології та природних ресурсів, у тому числі на місцевому рівні» від 16 жовтня 2012 р. № 5456-17 [8] не передбачає надання повноважень з проведення нетехнічної оцінки та біоетичної експертизи досліджень, що плануються, іншим органам.

Здається, що формально спрямованість змін законодавчих актів співпадає – відмова від формулювання «етична експертиза» спостерігається в обох розглянутих документах. Але, якщо в Директиві 2010/63/ЄС передбачена багаторівнева система експертизи наукових проектів, у тому числі розгляд нетехнічних аспектів, то питання підтвердження відповідності вітчизняних наукових досліджень принципам гуманності та раціонального використання тварин залишається відкритим.

Залишається сподіватися, що в майбутній редакції Закону ці питання знайдуть відображення.

1. Annual Statistics of Scientific Procedures on Living Animals Great Britain 2012 / LONDON: The Stationery Office, 2013. – 56 p.
2. Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // Official Journal of the European Communities. – 2010. – L 276. – p. 33 – 79.
3. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the Approximation of the Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes // Official Journal of the European Communities. – 1986. – L 358. – P. 1–29.
4. Russell W. M. S., Burch R. L. The principles of humane experimental technique. London: Methuen & Co. Ltd. 1959. [Reissued: 1992, Universities Federation for Animal Welfare, Herts, England.] – [WWW документ] URL http://altweb.jhsph.edu/publications/humane_exp/het-toc.htm.
5. Position on the Directive on the Protection of Animals used for Scientific Purposes (2010/63/EU) / ESF–EMRC Position Paper (3rd Edition), Strasbourg, 2011. – 8 p.
6. Hartung T. Comparative Analysis of the Revised Directive 2010/63/EU for the Protection of Laboratory Animals with its Predecessor 86/609/EEC – a t4 Report / T. Hartung // Altex 27. – 2010. – № 4. – P. 285–303.
7. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV / Відомості Верховної Ради України. – 2006. – № 27. – С. 230.
8. Закон України «Про внесення змін до деяких законодавчих актів України щодо оптимізації повноважень органів виконавчої влади у сфері екології та природних ресурсів, у тому числі на місцевому рівні» від 16 жовтня 2012 р. № 5456-17 / Офіційний вісник України. – 2012. – № 89. – С. 84, стаття 3591, код акту 64340/2012.

Н. В. Добреля, Е. В. Стрелков, Т. А. Бухтиарова

Развитие европейского законодательства в сфере использования животных в научных экспериментах

В сентябре 2010 года Европейским парламентом была принята Директива № 2010/63/ЕС о защите животных, используемых в научных целях. Основанием для пересмотра документа стали новые научные данные о возможности уменьшения количества животных в эксперименте, минимизации боли, стресса, страданий, причиненных животным, усовершенствования методик проведения эксперимента, применения обезболивающих средств при выполнении хирургических процедур, принятия научно обоснованных норм питания и условий содержания, точной оценки физиологического состояния животных во время эксперимента. Целью разработчиков этого документа был поиск баланса между принципами биоэтики и активно развивающихся научных исследований, с учетом рисков в отношении здоровья людей, животных и защиты окружающей среды. Содержание Директивы полностью соответствует принципу трех «R», которые были сформулированы Расселом и Берчем в 1959 году. В этом документе было расширено понятие «лабораторные животные», установлены правила по замене и сокращению количества животных при проведении экспериментов, определены условия разведения, содержания, маркировки и эвтаназии животных, использования органов в опытах *in vitro*. Смещен акцент в деятельности локальных органов по этическим вопросам на сохранение жизни и здоровья животных. Установлены критерии оценки научных проектов и порядок их рассмотрения.

Ключевые слова: этика, лабораторные животные, научные исследования

N. V. Dobrelia, I. V. Strielkov, T. A. Buchtiyarova

European legislations development on the use of animals in scientific experiments

Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes has been adopted on 22 September 2010. It represents an implementation of the 3Rs principle (Replacement, Reduction and Refinement of animal tests) put forward by Russel and Burch in 1959. The scope of the Directive is now wider. It sets minimum standards for housing and care of laboratory animals and regulates the use of animals through a systematic project evaluation requiring, inter alia, assessment of pain, suffering distress and lasting harm caused to them. Animal-welfare considerations should be given the highest priority in the context of animal keeping, breeding and use. Breeders, suppliers and users should therefore have an animal-welfare body in place with the primary task of focusing on giving advice on animal-welfare issues. The body should also follow the development and outcome of projects at establishment level, foster a climate of care and provide tools for the practical application and timely implementation of recent technical and scientific developments in relation to the principles of replacement, reduction and refinement, in order to enhance the life-time experience of the animals. The advice given by the animal-welfare body should be properly documented and open to scrutiny during inspections. The Directive requires regular risk-based inspections and improves transparency through measures such as publication of non-technical project summaries and retrospective assessment. It also establishes a criteria for the evaluation of scientific projects and proceedings.

Key words: ethics, laboratory animal, research

Надійшла: 13.02.2014 р.

Контактна особа: Добреля Наталія Володимирівна, молодший науковий співробітник, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потье, м. Київ, 03057. Тел.: +38 0 44 456 02 88. Електронна пошта: natalia_d@ukr.net

ВЛАДИСЛАВ МАТВІЙОВИЧ ОВРУЦЬКИЙ

1936–2014



2 травня 2014 року після важкої довготривалої хвороби пішов з життя один з провідних фахівців в галузі фармацевтичної хімії доктор хімічних наук Владислав Матвійович Овруцький.

В. М. Овруцький народився в 1936 році в м. Таганрогу Ростовської області в сім'ї службовця. У 1957 році закінчив Одеське військово-морське медичне училище, а в 1963 році – Ленінградський хіміко-фармацевтичний інститут. У 1961–1971 роках працював на Київському хіміко-фармацевтичному заводі імені М. В. Ломоносова (нині АТ «Фармак») інженером зміни, начальником дільниці, технологом цеху, начальником цеху, старшим інженером виробничо-технічного відділу.

Трудову діяльність в ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» розпочав у 1971 році на посаді молодшого наукового співробітника відділу синтезу алкілюючих сполук.

У 1975 році В. М. Овруцький захистив кандидатську дисертацію, у 1988 році – докторську.

У 1988–2002 роках завідував відділом синтезу фізіологічно активних сполук.

В. М. Овруцький є автором 298 наукових праць, у тому числі 40 авторських свідоцтв, 12 патентів України, 4 монографій, 3 підручників.

Основними науковими напрямками діяльності доктора хімічних наук В. М. Овруцького були розробка теоретичних основ пошуку фізіологічно активних речовин (ФАР), синтез нових ФАР в рядах фосфорильованих хлоретиламінів, гідразидів кислот фосфору, монофосфонатів, похідних ундецилової кислоти, біокисних метал силікатних сполук.

В. М. Овруцький є співавтором 5 лікарських препаратів, що впроваджені в медичну практику, та 4 препаратів для ветеринарії.

В. М. Овруцький був чуйною і порядною людиною, хорошим організатором та керівником, надійним товаришем. Таким він залишиться в пам'яті колег та учнів.

Колектив ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» висловлює співчуття рідним та близьким Владислава Матвійовича Овруцького.

Правила для авторів

1. У журналі «Фармакологія та лікарська токсикологія»/ «Pharmacology and drug toxicology») публікуються оглядові та оригінальні наукові статті, що стосуються:

- досліджень фармако- та токсикодинаміки лікарських засобів;
- пошуку та розробки нових потенційних лікарських засобів, вивчення механізмів їхньої дії, фармакологічних та токсичних властивостей;
- пошуку нових шляхів фармакологічної корекції патологічних станів, експериментального обґрунтування схем та методів фармакотерапії поширених захворювань;
- взаємодії між ліками;
- побічних ефектів при застосуванні ліків;
- питань фармацевтики, фармацевтичного ринку, фармакоекономіки.

Журнал «Фармакологія та лікарська токсикологія» включено до переліку журналів, публікації в яких зараховуються при захисті дисертацій у галузі медичних, біологічних та фармацевтичних наук.

2. Не приймаються до розгляду матеріали, що стосуються діагностики захворювань та немедикаментозних методів лікування.

3. Журнал публікує наступні типи статей:

- оригінальні наукові статті за результатами проведених досліджень;
- короткі інформаційні повідомлення;
- проблемні та оглядові статті.

4. Мова статей: українська, російська або англійська.

5. Основні вимоги до оригінальних статей:

- новизна та обґрунтованість фактичного матеріалу;
- оформлення рукопису відповідно до вимог журналу.

6. Дотримання принципів біоетики:

дослідження, яким присвячено статтю, мають бути проведені відповідно до Етичного Кодексу Всесвітньої Медичної асоціації (Хельсинська декларація) щодо досліджень, до яких долучають людей, або відповідно до Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 EU щодо експериментів на тваринах. Це має бути зазначено у відповідному розділі статті (Матеріали та методи).

7. Текст оригінальної статті має бути побудований за наступною схемою:

- індекс УДК у верхньому лівому куті листа (відповідно до всіх ключових слів);
- прізвища та ініціали автора/ів (по центру). Назва організації, де працює автор, із зазначенням міста. Якщо авторів декілька, і вони працюють у різних установах, необхідно арабськими цифрами зробити цифровий надрядковий знак, що відповідає установі, де працює кожний з авторів. Назва установи, з відповідним цифровим позначенням, має бути вказана в нижньому колонтитулі;
- назва статті – великими жирними літерами (по центру). Назва статті має бути лаконічною та інформативною, подається без використання вузькоспеціалізованих скорочень, крапка в кінці назви не ставиться;
- ключові слова (до 10 слів);

Вступна частина:

- постановка проблеми в загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями;
- аналіз досліджень, які присвячені розв'язанню даної проблеми й на які спирається автор;

- виділення невіршених частин загальної проблеми, яким присвячується означена стаття, та
- формулювання цілей (мети) роботи (постановка завдання);

Матеріали та методи:

– наводяться описи методів, реактивів та умов проведення дослідів. Обов'язково наводяться вид та кількість тварин, а також використані в досліді методи знеболення та еутаназії, твердження щодо схвалення досліджень комісією з біоетики в разі проведення досліджень із залученням людини або тварин. Обов'язково мають бути зазначені методи статистичної обробки результатів та програма, за допомогою якої було зроблено статистичний аналіз;

Результати та їх обговорення:

- виклад основного матеріалу дослідження з аналізом отриманих наукових результатів;

Висновки:

- висновки даного дослідження та перспективи подальших розробок у даному напрямі;

Список літературних посилань:

– подається на окремих аркушах та включає всі роботи, що згадуються в тексті, у порядку їхнього цитування на мові оригіналу (приклади оформлення літературних посилань наведено далі). Список літературних посилань до статті складається в послідовній нумерації та має містити джерела за останні п'ять років. При посиланні на журнальні статті наводять прізвище та ініціали авторів, назву роботи, назву журналу, рік, том, номер, сторінки; при посиланні на монографії – місто, видавництво, рік видання, кількість сторінок. Якщо у джерела більше 4 авторів, вказують 3 перших і далі «та ін.». Посилання на неопубліковані роботи не допускається. Посилання на бібліографічні джерела в тексті статті наводять у квадратних дужках;

Реферат (резюме):

- реферат (резюме) статті українською, російською та англійською мовами з назвою роботи, прізвищем та ініціалами автора/-ів, тексту, у якому має бути відображено мету, методи (тільки називаються) та результати дослідження (стисло), а також основні висновки та рекомендації. Зазначені розділи необхідно відокремити абзацами. Завершується реферат ключовими словами відповідною мовою. Реферат та ключові слова обов'язково подаються українською, російською та англійською мовами та мають бути ідентичними. Рекомендований середній об'єм тексту реферату – до 300 слів.

При написанні реферату англійською мовою доцільно користуватися послугами кваліфікованих перекладачів з подальшим науковим редагуванням тексту автором/-ами.

Російськомовним авторам достатньо надати резюме російською та англійською мовами. Переклад на українську здійснюватиметься редакцією.

Англомовним авторам достатньо надати резюме англійською мовою. Переклад на українську та російську мови здійснюватиметься редакцією.

8. Стаття має бути підписаною авторами та супроводжуватись:

- листом від організації, де виконано цю роботу;
- експертним висновком про можливість публікації (тільки для вітчизняних авторів);
- відомостями про авторів із зазначенням контактної особи, наукового ступеня, звання, місця роботи, контактного телефону, поштової та електронної адреси.

9. Матеріали статті мають бути викладені українською, російською або англійською мовою. Матеріали надаються на паперовому носії (білому аркуші форматом А 4 через 1,5 інтервалу в форматі текстового редактора MS WORD for Windows, формат файлу – *.doc, без ручних перенесень, шрифтом Times New Roman 14 пт, з інтервалом 1,5 та в електронному вигляді з ідентичним текстом статті у форматі текстового редактора MS WORD for Windows).

10. Обсяг матеріалів оригінальних досліджень має становити 6–12 сторінок, оглядів – 12–20 сторінок, включаючи ілюстрації, таблиці та список літератури. У паперового та електронного варіантів рукопису мають бути наступні береги: лівий – 3,5 см, правий – 1,5 см, верхній та нижній – по 2,5 см.

У сторінок рукопису має бути наскрізна нумерація, у тому числі з таблицями, рисунками, переліком літературних посилань, рефератами.

11. Таблиці, рисунки та підписи до них необхідно розміщувати у порядку їхнього згадування в тексті. Назви таблиць та рисунків мають бути лаконічними та інформативними, без скорочень та абревіатур. Заголовки окремих граф мають відповідати їхньому змісту. На всі рисунки й таблиці в тексті необхідно робити посилання.

Усі рисунки та фотографії мають бути чіткими й контрастними і додаватися в електронному вигляді у форматі .tif або .jpg. У підписах до мікрофотографій, що ілюструють результати патоморфологічних досліджень, необхідно вказувати ступінь збільшення і метод фарбування.

12. Позначки різних мір, одиниці фізичних величин, результати клінічних і лабораторних досліджень слід наводити відповідно до Міжнародної системи одиниць (СИ), медичні терміни – згідно з Міжнародною анатомічною та Міжнародною гістологічною номенклатурами, назви захворювань – за Міжнародною класифікацією хвороб 10-го перегляду. Назви фірм-виробників лікарських препаратів та реактивів, використаних у досліджах, треба подавати в оригінальній транскрипції. Латинські назви роду та виду мікроорганізмів необхідно виділяти курсивом.

Скорочення в тексті слів, імен, термінів (крім загальноновідомих) не допускається. Абревіатури розшифровуються після першого згадування і залишаються незмінними протягом усього тексту.

13. Відповідальність за вірогідність та оригінальність наданих матеріалів (результатів досліджень, фактів, цитат, прізвищ, імен тощо) покладається на авторів.

Надсилати до редакції роботи, що опубліковані в інших виданнях або направлені до друку в інші редакції, не допускається.

14. Статті, оформлені без дотримання правил, не розглядаються і не повертаються авторам. Текст статті має бути старанно вивіреним. Коректура авторам не висилається. Відхилені рукописи не повертаються.

15. Матеріали статей рецензуються. Редакція залишає за собою право на редагування та скорочення одержаних матеріалів, публікацію їх у вигляді коротких повідомлень.

16. Журнал реферується Українським Реферативним журналом. Опубліковані матеріали зберігаються в базі даних «Україніка наукова» та відкриті до ON-лайнного доступу на WEB-сайті журналу: pharmtox-j.org.ua

17. Авторський текстовий матеріал (2 примірники статті разом з супровідними документами) надається особисто або надсилається на поштову адресу редакції: 03680, м. Київ, вул. Єжена Потьє, 14, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», редакція журналу «Фармакологія та лікарська токсикологія». На останній сторінці одного з примірників мають бути власноручні підписи всіх авторів (цим підтверджується їхня згода на друкування статті та використання персональних даних).

Електронний варіант статті можна надавати на компакт-диск, на USB-накопичувачі (тільки за особистої подачі) або надсилати електронною поштою як прикріплені файли. Адреса електронної пошти: misliviets@inbox.ru.

Зразок оформлення списку літератури

Характеристика джерела	Приклад оформлення
<i>Монографія</i>	
Один автор	Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш. – М. : Высшая школа, 1991. – 527 с.
Два автори	Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова. – М. : Высшая школа, 1991. – 527 с.
Три автори	Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – М. : Высшая школа, 1991. – 527 с.
Чотири автори	Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк. – К. : Вища шк., 1983. – 383 с.
П'ять і більше авторів	Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария [и др.]. – К. : Вища шк., 1983. – 383 с.
Складова частина книги або збірника	Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. // Современные методы в биологии: под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / Коваленко В. М., Стефанов О. В., Максимов Ю. М., Трахтенберг І. М. // Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації: за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 74–97.
Стаття в журналі	Шишкова К. В. Особливості функціонального стану серцево-судинної системи хворих на ревматоїдний артрит, поєднаний з ішемічною хворобою / Шишкова К. В. // Укр. мед. альманах. – 2009. – Т. 12, № 6. – С. 219–221.
Електронний ресурс	Malate-Aspartate Shunt in Neuronal Adaptation to Ischemic Conditions: Molecular–Biochemical Mechanisms of Activation and Regulation / Belenichev I. F., Kolesnik Yu. M., Pavlov S. V. [et al.] // Neurochem. J. – 2012. – V. 6, № 1. – P. 22–28. Сучасні питання хірургічного лікування хворих із вперше виявленим деструктивним туберкульозом легень (огляд літератури) [Електронний ресурс] / Б. В. Радіонов [та ін.]. – Режим доступу: http://www.ifp.kiev.ua/ftp1/original/2008/kalabuha2008.pdf
Тези доповіді	Пішель В. Я. Вплив тестостерону і флутаміду на перебіг морфінової залежності та морфологічні характеристики головного мозку білих щурів / В. Я. Пішель, О. В. Сергієнко, А. В. Матвієнко // Фармакологія – 2006 – крок у майбутнє: тез. доп. – Одеса, 2006. – С. 135–136.
Автореферат дисертації	Добреля Н. В. Експериментальне обґрунтування застосування фосфатидилхолінових ліпосом при артеріальній гіпертензії різного ґенезу: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 4.03.05 «Фармакологія» / Добреля Наталія Володимирівна; ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». – Київ, 2013. – 22 с.
Патент	Пат. № 86668, UA, МПК C07D 249/08 (2006.01), A61K 31/4196 (2006.01), A61P 9/00, A61P 9/10 (2006.01), A61P 25/28 (2006.01). Лізінний 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат / Мазур І. А., Беленічев І. Ф., Колесник Ю. М. та ін.; – власник ТОВ «НВО Фарматрон». – № а200705865; заявл. 25.10.07; опубл. 12.05.09, Бюл. № 9.
Методичні вказівки	Доклінічне вивчення засобів для лікування та профілактики захворювань слизової оболонки порожнини рота: методичні рекомендації // К. М. Косенко, В. Я. Скиба, А. П. Левицький [та ін.]. – К., 2002. – 19 с.
Інтернет-сторінка	Термінологія законодавства України // http://www.rada.kiev.ua/laws/pravo/new/termin.html

Правила для авторов

1. В журнале «Фармакология и лекарственная токсикология» / «Pharmacology and drug toxicology») публикуются обзорные и оригинальные научные статьи, касающиеся:

- исследований фармако- и токсикодинамики лекарственных средств;
- поиска и разработки новых потенциальных лекарственных средств, изучения механизмов их действия, фармакологических и токсических свойств;
- поиска новых путей фармакологической коррекции патологических состояний, экспериментального обоснования схем и методов фармакотерапии распространенных заболеваний;
- взаимодействия между лекарствами;
- побочных эффектов при применении лекарств;
- вопросов фармацевтики, фармацевтического рынка, фармакоэкономики.

Журнал «Фармакология и лекарственная токсикология» включен в перечень журналов, публикации в которых засчитываются при защите диссертаций в области медицинских, биологических и фармацевтических наук.

2. Не принимаются к рассмотрению материалы, касающиеся диагностики заболеваний и немедикаментозных методов лечения.

3. Журнал публикует следующие типы статей:

- оригинальные научные статьи по результатам проведенных исследований;
- короткие информационные сообщения;
- проблемные и обзорные статьи.

4. Язык статей: украинский, русский или английский.

5. Основные требования к оригинальным статьям:

- новизна и обоснованность фактического материала;
- оформление рукописи в соответствии с требованиями журнала.

6. Соблюдение принципов биоэтики:

- исследование, которому посвящена статья, должно быть проведено в соответствии с Этическим Кодексом Всемирной Медицинской ассоциации (Хельсинская декларация) по исследованиям, к которым приобщают людей, или в соответствии с Директивой Европейского Союза 2010/10/63 EU при экспериментах на животных. Это должно быть указано в соответствующем разделе статьи (Материалы и методы).

7. Текст оригинальной статьи должен быть построен по следующей схеме:

- индекс УДК в верхнем левом углу листа (в соответствии со всеми ключевыми словами);
- фамилии и инициалы автора/ов (по центру). Название организации, где работает автор, с указанием города. Если авторов несколько, и они работают в разных учреждениях, необходимо арабскими цифрами сделать цифровой надстрочный знак, соответствующий учреждению, где работает каждый из авторов. Название учреждения с соответствующим цифровым обозначением должно быть указано в нижнем колонтитуле;
- название статьи – большими жирными буквами (по центру). Название статьи должно быть лаконичным и информативным, подается без использования узкоспециализированных сокращений, точка в конце названия не ставится;
- ключевые слова (до 10 слов);

Вступительная часть:

- постановка проблемы в общем виде и ее связь с важными научными или практическими задачами;
- анализ исследований, посвященных решению данной проблемы, на которые опирается автор;

-
- выделение нерешенных частей общей проблемы, которым посвящается статья;
 - формулировка цели исследования (постановка задачи);

Материалы и методы:

- приводится описание методов, реактивов и условий проведения опытов. Обязательно указывается вид и количество животных, а также использованные в опытах методы обезболивания и эвтаназии, утверждение об одобрении исследований комиссией по биоэтике при проведении исследований с участием человека и животных. Обязательно должны быть указаны методы статистической обработки результатов и программа, с помощью которой был проведен статистический анализ;

Результаты и обсуждение:

- изложение основного материала исследования с анализом полученных научных результатов;

Выводы:

- выводы данного исследования и перспективы дальнейших разработок в данном направлении;

Список литературы:

- подается на отдельных листах и включает все работы, упоминаемые в тексте, в порядке их цитирования на языке оригинала (примеры оформления литературных ссылок приведены далее). Список литературных ссылок составляется в последовательной нумерации и должен содержать источники за последние пять лет. При ссылке на журнальные статьи указывают фамилию и инициалы авторов, название работы, название журнала, год, том, номер, страницы; при ссылке на монографии – город, издательство, год издания, количество страниц. Если у источника более 4 авторов, указывают 3 первых и дальше «и др.». Ссылки на неопубликованные работы не допускаются. Ссылки на библиографические источники в тексте статьи приводятся в квадратных скобках;

Реферат (резюме):

- реферат (резюме) статьи на украинском, русском и английском языках с названием работы, фамилий и инициалами автора/-ов текста, в котором должны быть отражены цель, методы (только называются) и результаты исследования (кратко), а также основные выводы и рекомендации. Указанные разделы должны быть отделены абзацами. Завершается работа ключевыми словами на соответствующем языке. Реферат и ключевые слова обязательно предоставляются на украинском, русском и английском языках и должны быть идентичными. Рекомендуемый средний объем текста реферата – до 300 слов.

При написании реферата на английском языке целесообразно пользоваться услугами квалифицированных переводчиков с последующим научным редактированием текста автором/-ами.

Русскоязычным авторам достаточно предоставить резюме на русском и английском языках. Перевод на украинский будет осуществляться редакцией.

Англоязычным авторам достаточно предоставить резюме на английском языке. Перевод на украинский и русский языки будет осуществляться редакцией.

8. Статья должна быть подписана всеми авторами и сопровождаться:

- письмом от организации, где выполнена эта работа;
- экспертным заключением о возможности публикации (только для отечественных авторов);
- сведениями об авторах с указанием контактного лица, ученой степени, звания, места работы, контактного телефона, почтового и электронного адреса.

9. Материалы статьи должны быть изложены на украинском, русском или английском языке. Материалы предоставляются на бумажном носителе (белом листе формата А 4 через 1,5 интервала в формате текстового редактора MS WORD for Windows, формат файла – *.doc, без ручных переносов, шрифт Times New Roman 14 пт, с интервалом 1,5 и в электронном виде с идентичным текстом статьи в формате текстового редактора MS WORD for Windows).

10. Объем материалов оригинальных исследований должен составлять 6–12 страниц, обзоров – 12–20 страниц, включая иллюстрации, таблицы и список литературы. Бумажный и электронный варианты рукописей должны иметь поля: левое – 3,5 см, правое – 1,5 см, сверху и снизу – по 2,5 см.

Страницы рукописи должны иметь сквозную нумерацию, в том числе с таблицами, рисунками, списком литературных ссылок, рефератами.

11. Таблицы, рисунки и подписи к ним необходимо размещать в порядке их упоминания в тексте. Названия таблиц и рисунков должны быть лаконичными и информативными, без сокращений и аббревиатур. Заголовки отдельных графов должны соответствовать их содержанию. На все рисунки и таблицы в тексте нужно делать ссылки.

Все рисунки и фотографии должны быть четкими и контрастными и добавляться в электронном виде в формате *.tif или *.jpg. В подписях к микрофотографиям, иллюстрирующим результаты патоморфологических исследований, необходимо указывать степень увеличения и метод окрашивания.

12. Обозначение различных мер, единицы физических величин, результаты клинических и лабораторных исследований следует приводить в соответствии с Международной системой единиц (СИ), медицинские термины – по Международной анатомической и Международной гистологической номенклатурам, названия заболеваний – по Международной классификации болезней 10-го пересмотра. Названия фирм-производителей лекарственных препаратов и реактивов, использованных в опытах, надо подавать в оригинальной транскрипции. Латинские названия рода и вида микроорганизмов необходимо выделить курсивом.

Сокращение в тексте слов, имен, терминов (кроме общеизвестных) не допускается. Аббревиатуры расшифровываются после первого упоминания и остаются неизменными на протяжении всего текста.

13. Ответственность за достоверность и оригинальность представленных материалов (результатов исследований, фактов, цитат, фамилий, имен и т. п.) возлагается на авторов.

Направлять в редакцию работы, опубликованные в других изданиях или направленные в печать в другие редакции, не допускается.

14. Статьи, оформленные без соблюдения правил, не рассматриваются и не возвращаются авторам. Текст статьи должен быть тщательно выверен. Корректурa авторам не высылается. Отклоненные рукописи не возвращаются.

15. Материалы статей рецензируются. Редакция оставляет за собой право на редактирование и сокращение полученных материалов, публикацию их в виде коротких сообщений.

16. Журнал реферируется Украинским реферативным журналом. Опубликованные материалы хранятся в базе данных «Україніка наука» и открыты в ON-лайн доступе на WEB-сайте журнала: pharmtox-j.org.ua

17. Авторский текстовый материал (2 экземпляра статьи вместе с сопроводительными документами) подается лично или направляется на почтовый адрес редакции: 03680, г. Киев, ул. Эжена Потье, 14, ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМНУ», редакция журнала «Фармакология и лекарственная токсикология». На последней странице одного из экземпляров должны быть собственноручные подписи всех авторов (этим подтверждается их согласие на печатание статьи и использование персональных данных).

Электронный вариант статьи можно подавать на компакт-диске, на USB-накопителе (только при подаче лично) или направить по электронной почте как прикрепленные файлы. Адрес электронной почты: misliviets@inbox.ru.

To Authors

The Pharmacology and Drug Toxicology publishes original papers on basic, experimental and applied pharmacology, safety pharmacology and toxicology. The journal also considers short reviews (not exceeding 8–10 pages in print) intended to debate recent advances in rapidly developing fields of pharmacology, toxicology, pharmacy and pharmacotherapy. There are no fixed limits on the length of research papers but concise presentations are encouraged.

Authors are strongly recommended to read to Authors before submitting a manuscript for publication. Manuscripts submitted to the journal are accepted on the understanding that they are subject to editorial review.

Types of paper. The journal publishes the following article types:

1. Full-length research paper
2. Short communication
3. Review Article

Ethics in publishing. The work described in the article must have been carried out in accordance to *The Code of Ethics of the World Medical Association (declaration of Helsinki)* for experiments involving humans or *EU Directive 2010/10/63/EU for animals experiments*. This must be stated at an appropriate point in the article.

Submission declaration. Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint), that it is not under consideration for publication elsewhere and, that its publication is approved by all authors.

Languages. Ukrainian, Russian, English.

Submission. Submission to this journal proceeds totally through e-mail address of the Editorial Office misliviets@inbox.ru.

Use of wordprocessing software It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts. Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your wordprocessor.

Additional information. Please make sure to adhere to the following word limits:

Abstract: max. 300 words, introduction: max. 750 words, discussion: max. 1750 words

Article structure.

Title page.

The title page of each manuscript should include: article title; authors' names (including first and middle names) typed on the line below the title; name and address of institution(s) from which the work originated, e-mail address of a person to whom proofs should be addressed.

Essential title page information.

Title. Concise and informative. Avoid abbreviations and formulae where possible.

Author names and affiliations. Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of corresponding author.

Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.

Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract.

This section should be brief (300 words) and include aims describing the purpose, methods, results and conclusions. A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. Non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Key words.

Key words (7–8 maximum) must be provided for indexing at the end of abstract.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods.

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Results.

Results should be clear and concise.

Discussion.

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. Avoid extensive citations and discussion of published literature. Please make sure to limit the length of this paragraph to max. 1750 words.

Conclusions.

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion section.

Abbreviations.

Abbreviations are a hindrance for the reader. Use as few abbreviations as possible and write out names of compounds, receptors, etc., in full throughout the text of the manuscript.

Authors not conforming to these demands will have their manuscripts returned for correction, with delayed publication as the result.

Acknowledgements.

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Electronic artwork.

General points. Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.

- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the printed version. • Submit each illustration as a separate file.

Formats. If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format. Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below): TIFF (or JPEG): Grayscale photographs, keep to a minimum of 300 dpi. TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi. TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped

line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Figure captions. Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Mathematical formular language. Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Tables.

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References.

Citation in text Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa) Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference formatting. There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present.

Reference style. Bibliographic references in the text should be appearing like [1, 2 ...], using square brace.

List of references. References should be arranged in order of its citation in the text and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication: Van der Geer J., Hanraads J. A. J., Lupton R. A. The art of writing a scientific article // J. Sci. Commun. – 2010. – V. 163. – P. 51–59. Reference to a book: Strunk J. W., White E. B. The Elements of Style. Ed. Longman, New York, 2000. – 102 p. Reference to a chapter in an edited book: Mettam, G. R. How to prepare an electronic version of your article / Mettam G. R., Adams L. B., Jones B. S. (Eds.) // Introduction to the Electronic Age. E-Publishing Inc.In. – New York, 2009. – P. 281–304.

Submission checklist. The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present. One author has been designated as the corresponding author with contact details: E-mail address

- Full postal address
- Phone numbers All necessary files have been uploaded, and contain:
- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description,) Further considerations
- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa.

ОБЗОРЫ

<i>Важничая Е. М., Боброва Н. А., Ганчо О. В., Лобань Г. А.</i> Наночастицы серебра: антибактериальные и антифунгальные свойства	3
<i>Кизуб И. В., Клименко К. И., Соловьев А. И.</i> Участие протеинкиназы С в механизмах нарушения сосудистого тонуса при сахарном диабете. Часть 2	12
<i>Петруша Ю. Ю., Омельянич Л. А.</i> Синтез и биологическая активность производных 1,2,3,4-тетрагидроакридина	18

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ НЕЙРОФАРМАКОЛОГИИ

<i>Гончар-Чердакли Л. Г., Осадчук К. О., Ворожбыт А. П.</i> Исследования доминантного межполушарного влияния антиконвульсантов на электрофизиологические показатели функционирования мозга	25
<i>Цывунин В. В., Штрыголь С. Ю., Загинайченко Б. А.</i> Исследование психотропных свойств потенциальных растительных антиконвульсантов.....	30

В НАУЧНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ

<i>Лукьянчук В. Д., Полищук Е. М., Сейфуллина И. И., Рисухина Н. В., Марцинко О. Е., Чебаненко А. А.</i> Сравнительная оценка фармакологической активности координационных соединений бис(цитрато)германатов и станнатов на модели закрытой черепно-мозговой травмы	36
<i>Мокляк Е. В., Власенко Н. А., Важничая Е. М.</i> Содержание эритропоэтина при коррекции производным 3-гидроксипиридина острого стресса с разной степенью повреждения системы эритрона	44
<i>Сапегин В. И.</i> Влияние L-лизина эсцината на локальное кровообращение в стенке кишечника в условиях моделирования интраабдоминальной гипертензии	49
<i>Семенченко О. М., Цуркан А. А., Кораблева О. А., Бурмака А. В.</i> Экспериментальное изучение противоязвенной активности травы некоторых видов рода <i>Salvia L.</i> на модели спиртово-преднизолоновой язвы желудка у крыс	55
<i>Тозюк Е. Ю., Степанюк Г. И.</i> Сравнительная оценка влияния натрия 2-(тетразоло[1,5-с]хиназолин-5-илтио)-ацетата и бемитила на процесс восстановления физической работоспособности крыс	59
<i>Ярош А. К., Нагорная Е. А., Кучеренко Л. И., Бидненко О. С.</i> Параметры фармакокинетики таблеток «Ангиолин» в крови крыс после перорального введения.....	64
<i>Шаяхметова А. М.</i> Повреждение семенников крыс после введения противотуберкулезных лекарственных средств в различных комбинациях.....	70

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

<i>Дроговоз С. М., Лукьянчук В. Д., Шейман Б. С., Торяник Э. Л., Кононенко А. В.</i> Опасность передозировки гипотензивных препаратов	77
<i>Шеремета Л. Н.</i> Гепатотоксичность лекарств при их клиническом применении.....	84

БИОЭТИКА

<i>Добреля Н. В., Стрелков Е. В., Бухтиярова Т. А.</i> Развитие европейского законодательства в сфере использования животных в научных экспериментах	88
--	----

ЛИЧНОСТИ

<i>Владислав Матвеевич Овруцкий. 1936–2014</i>	92
--	----

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ	97
----------------------------------	----

CONTENT

REVIEWS

<i>Vazhnichaya Ye. M., Bobrova N. A., Hanchko O. V., Loban G. A.</i> Silver nanoparticles: antibacterial and antifungal properties.....	3
<i>Kizub I. V., Klymenko K. I., Soloviev A. I.</i> Protein kinase C participation in mechanisms of vascular tone abnormality in diabetes mellitus. Part 2	12
<i>Petrusha Y. Y., Omelyanchik L. A.</i> Synthesis and biological activity of 1,2,3,4-tetrahydroacridine derivatives.....	18

CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

<i>Gonchar- Cherdakli L., Osadchuk K., Vorozhbyt A.</i> Studies of hemispheric dominant influence of anticonvulsants on the electrophysiological parameters of brain functioning	25
<i>Tsyvunin V. V., Shtrygol' S. Yu., Zaginaychenko B. A.</i> The investigation of psychotropic properties of the potential herbal anticonvulsants	30

IN SCIENTIFIC LABORATORIES

<i>Lukjanchuk V. D., Polishchuk Y. M., Seifullina I. J., Rysukhina N. V., Martsynko O. E., Chebanenko O. A.</i> Comparative study of pharmacological activity of the coordination compounds bis(citrate)germanates and stannates on the model of closed cranio-cerebral injury.....	36
<i>Mokliak Ye. V., Vlasenko N. A., Vazhnichaya Ye. M.</i> Erythropoietin content in correction by 3-hydroxypyridine derivative the acute stress with various degree of erythron system damage	44
<i>Sapegin V. I.</i> L-lysine escinate influence on local blood circulation in the intestinal wall under intraabdominal hypertension modeling	49
<i>Semenchenko O. M., Tsurkan A. A., Korableva O. A., Burmaka A. V.</i> The experimental study of anti-ulcer activity of herbs of some of the genus <i>Salvia</i> at the experimental alcohol-prednisolone model of gastric ulcer in rats	55
<i>Tozyuk E. Yu., Stepanyuk G. I.</i> Comparative evaluation of sodium 2-(tetrazol[1,5-c]quinazolin-5-ylthio)-acetate and bemityl effects on the recovery process of physical working capacity of rats	59
<i>Yarosh A. K., Nagornaya H. A., Kucherenko L. I., Bidnenko O. S.</i> The pharmacokinetic parameters of the «Angiolin» tablets in rats blood after oral administration.....	64
<i>Shayakhmetova G. M.</i> Testicular damage in rats after co-administration of anti-tuberculosis drugs in different combinations.....	70

CLINICAL PHARMACOLOGY

<i>Drogovoz S. M., Lukyanchuk V. D., Sheiman B. S., Toryanik E. L., Kononenko A. V.</i> The risk of overdose of antihypertensive drugs	77
<i>Sheremeta L. M.</i> Hepatotoxicity of drugs in their clinical application	84

BIOETHICS

<i>Dobrelia N. V., Strielkov I. V., Buchtiyarova T. A.</i> European legislations development on the use of animals in scientific experiments	88
--	----

PERSONALITY	92
--------------------------	----

TO AUTHORS	100
-------------------------	-----