
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

№ 3(39)/2014

ЗМІСТ

СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

Беленічев І. Ф., Павлов С. В., Кучеренко Л. І. Нейро- та мітопротективний ефекти Ангіоліну та Цереброкурину.....3

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

Дорошенко А. М., Рєзніченко Л. С., Дибкова С. М., Грузіна Т. Г., Маранов А. О., Ульберг З. Р., Чекман І. С. Протианемічна активність субстанції наночастинок заліза за умов перорального введення шурам 12

Дудікова Д. М., Коробкова К. С., Токовенко І. П. Антимікоплазмозна активність похідних 1-адамantanфенолу 20

Зеленюк В. Г., Заморський І. І., Давиденко І. С., Паливода О. Г. Морфологічні зміни в нирках щурів під впливом статинів при гентаміциновій гострій нирковій недостатності 25

Поготова Г. А., Горчакова Н. О., Беленічев І. Ф., Чекман І. С. Особливості антиоксидантних і енерготропних механізмів органопротективної дії препарату омега-3-ненасичених жирних кислот за експериментального токсичного гепатиту..... 31

Прискока А. О. Дослідження гострої токсичності наночастинок срібла при внутрішньовенному введенні..... 38

Серединська Н. М., Мохорт М. А., Киричок Л. М. Больова чутливість та адекватність її оцінки за тестом «tail-flick» у білих щурів..... 45

Слесарчук В. Ю. Дослідження функціонального стану нирок щурів за умов застосування ліофільного порошку м'якоти кавуна в нормі та за гострої ниркової недостатності 52

Чікіткіна О. М., Ковалевська І. В., Кононенко Н. М., Чікіткіна В. В. Експериментальне обґрунтування вибору дози та носія субстанції кверцетину в складі нового протидіабетичного засобу «Глікверину» 57

Щербак М. О., Бєленічев І. Ф., Абрамов А. В., Бухтіярова Н. В., Моргунцова С. А., Павлов С. В., Каплаушенко А. Г. Дослідження кардіопротекторної активності 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну	64
---	----

РОЗРОБКА НОВИХ МЕТОДИЧНИХ ПРИЙОМІВ

Гудзенко А. В. Розробка ВЕРХ методики визначення ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти в лікарських засобах хвоща польового (<i>Equisetum arvense</i> L.)	70
---	----

КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Кресюн В. Й., Філюк В. В., Антоненко П. Б., Даниленко Ю. М., Мозолевич Г. В. Поліморфізм генотипу цитохрому Р-450 2Е1 у хворих на туберкульоз	77
---	----

ПИТАННЯ ФАРМАЦЕВТИКИ, ФАРМАЦЕВТИЧНОГО РИНКУ, ФАРМАКОЕКОНОМІКИ

Макаренко О. В., Соломко Д. С. Фармакоєкономічна оцінка терапії алергічного риніту	82
--	----

ІНФОРМАЦІЯ З БЕЗПЕКИ ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

За сторінками журналу «WHO Pharmaceuticals Newsletter»	88
--	----

ОСОБИСТОСТІ

Юлія Іванівна Лобода. 1927–2014	93
Лора Дмитрівна Проценко. 1927–2014	94

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENT

І. Ф. Бєленічев, С. В. Павлов, Л. І. Кучеренко

Нейро- та мітопротективний ефекти Ангіоліну та Цереброкуруну

Запорізький державний медичний університет
НВО «Фарматрон», м. Запоріжжя

Ключові слова: Ангіолін, Цереброкурин, ішемічне пошкодження *in vitro* та *in vivo*, ультраструктура мітохондрій

За даними міжнародних епідеміологічних досліджень у світі від інсульту щорічно помирає 4,7 млн осіб. Серед усіх видів інсультів переважають ішемічні ураження мозку, які призводять не тільки до зменшення тривалості життя, а й обмежують соціальну активність людини внаслідок розвитку стійкого когнітивного дефіциту [1, 2]. Одним із основних механізмів розвитку порушень у тканинах та органах після ішемії та реперфузії вважають дисфункцію мітохондрій. Показано, що порушення функції цих органел має багатогранний вплив на внутрішньоклітинні процеси: сприяє розвитку дефіциту енергії, окисного стресу, активує механізми програмованої загибелі клітин [3–6]. У зв'язку з цим мітохондрії розглядають як перспективну мішень цитопротекції при розробці технології захисту органів та тканин від ішемічних пошкоджень та корекції їхніх наслідків. Наприкінці XX та на початку XXI століття з метою корекції мітохондріальної дисфункції використовували препарати енерготропів – коензим Q10, карнітин, вітаміни групи В, похідні бурштинової кислоти. Проте раціональну підходи до їхнього використання недостатньо розроблені, препарати використовують емпірично, без достатніх знань про їхні можливості та особливості дії, без планування стратегії лікування з позиції доцільності [7–8]. Натепер в експериментальних та клінічних дослідженнях антигіпоксантів продемонстровано перевагу препаратів з метаболітотропним типом дії, здатних попереджати розвиток енергодефіциту та оксидативного стресу [7, 9, 10]. До

таких препаратів можна віднести синтезований на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету новий лікарський засіб оригінальної структури – L-лізин 1,2,4-тріазоліл-5-тіоацетат з робочою назвою Ангіолін, який містить структурні фрагменти тіотріазоліну та L-лізину. У попередніх наших дослідженнях *in vivo* та *in vitro* було продемонстровано здатність Ангіоліну проявляти антиоксидантну, енерготропну, мітопротективну та ендотеліотропну дії [10–13]. З іншого боку, як нашими попередніми дослідженнями, так і роботами інших дослідників, продемонстрований виражений енерготропний та нейропротективний ефекти вітчизняного нейропептидного препарату – Цереброкуруну. Показано здатність Цереброкуруну обмежувати розвиток мітохондріальної дисфункції та активувати мітохондріально-цитозольні шляхи продукції енергії за умов гострої церебральної ішемії.

Сьогодні важливим показником ефективності препаратів нейропротекторної дії вважають їхню здатність впливати на збереження морфологічної цілісності нейрональної клітини та її органел [14].

Мета дослідження – вивчення впливу Ангіоліну та Цереброкуруну на ультраструктуру нейронів та їхніх мітохондрій за умов гіпоксії *in vitro* та *in vivo*.

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження проведені на 40 самцях щурів масою 200–220 г, отриманих з ПП «Біомодельсервіс». Тривалість карантину становила 14 днів, протягом яких проводили щодобовий огляд кожної тварини (поведінка та загальний стан) [14]. Перед початком дослідження тварин, які відповідали критеріям включення до експерименту, розподіля-

ли на експериментальні групи за допомогою методу рандомізації. Дослідних тварин утримували на однаковому раціоні у звичайних умовах віварію. Їх утримання відповідало правилам Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.).

З метою моделювання гіпоксії *in vitro* до нейрональної суспензії вносили нейротоксин, роз'єднувач тканьового дихання – 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин (МФП) у концентрації 0,6 мкМ, що деякою мірою моделює *in vitro* каскад молекулярно-біохімічних змін у тканинах за умов гіпоксії [14]. Досліджувані препарати вносили в інкубаційне середовище (0,6 мкМ МФП, 70 мМ сахарози, 70 мМ KCl, 0,5 – 1 мМ KH_2PO_4 , рН 7,4) у наступних концентраціях: Ангіолін – 10^{-3} М; Цереброкурин – 40 мкл/г тканини.

Для досліджень *in vitro* використовували білих самців щурів 4-тижневого віку, масою 70–100 г. Видалену тканину головного мозку промивали в сольовому середовищі (0,15 М KCl) при температурі + 4 °С та гомогенізували в розчині для гомогенізації (70 мМ сахароза, 20 мМ трисамінометан, 1 мМ ЕДТА, рН 7,4) за допомогою гомогенізатора (співвідношення тканини до розчину 1:10). Виділення збагаченої фракції нейронів проводили шляхом диференційного центрифугування при 700 г протягом 7 хв у градієнті щільності сахарози та фіколу. Після 60-хв інкубування суспензії нейронів з МФП та досліджуваними препаратами для подальших біохімічних та електронно-мікроскопічних досліджень шляхом ультрацентрифугування протягом 15 хв при 11 000 г та температурі +4 °С виділяли мітохондріальну фракцію [14].

Ішемію головного мозку моделювали шляхом двобічної оклюзії загальної сонної артерії. Операцію проводили під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг) [14]. Досліджувані препарати, Ангіолін – 50 мг/кг; Цереброкурин – 150 мг/кг, вводили внутрішньочеревно, перше введення – одразу після виходу тварин з наркозу, далі – один раз на добу протягом експерименту (4 доби).

Розвиток мітохондріальної дисфункції в дослідях *in vitro* та *in vivo* визначали за відкриттям мітохондріальної пори (МП). У суспензії мітохондрій (1 мг білка в зразку) при + 25 °С після ініціації циклоспорином-А (0,5 мл) та постійного перемішування протягом 25 хв відкриття МП визначали спектрофотометрично за циклоспорин-А-чутливим поглинанням при 540 нм [14].

Для оцінки процесів енергетичного обміну та функціональної активності мітохондрій за умов гострої церебральної ішемії та МФП-індукованої гіпоксії *in vitro* на підставі отриманих нами в попередніх дослідженнях даних [15, 16] щодо вмісту в тканинах головного мозку та суспензії нейронів макроергічних фосфатів – АТФ, АДФ, АМФ розраховували наступні показники енергозабезпечення – енергетичний заряд (ЕЗ), енергетичний потенціал (ЕП), індекс фосфорилування (ІФ), термодинамічний контроль дихання (ТКД) [14].

Показники розраховували за формулами:

- ЕЗ: $\text{АТФ} + 1/2\text{АДФ} / \text{АТФ} + \text{АДФ} + \text{АМФ}$;
- ЕП: $\text{АТФ} + \text{АДФ}$;
- ІФ: $\text{АТФ} / \text{АДФ} + \text{АМФ}$;
- ТКД: $\text{АДФ} / \text{АМФ}$.

Для електронно-мікроскопічних досліджень тканину головного мозку (CA1 зона гіпокампа) або суспензію мітохондрій фіксували в 3 % розчині глутаральдегіду. Далі за стандартною схемою заливали в епоксидну смолу Епон-812. Серійні ультратонкі зрізи робили на ультрамікротомі LKB-III та фарбували свинцем за Рейнольдсом [17].

У дослідях *in vitro* суспензія нейронів була розподілена на наступні експериментальні серії:

- 1) суспензія нейронів без додавання МФП;
- 2) суспензія нейронів з додаванням МФП (0,6 мкМ) (МФП-індукована гіпоксія *in vitro*);
- 3) суспензія нейронів з додаванням МФП (0,6 мкМ) та Ангіоліну (10^{-3} М);
- 4) суспензія нейронів з додаванням МФП (0,6 мкМ) та Цереброкуруну (40 мкл/г тканини).

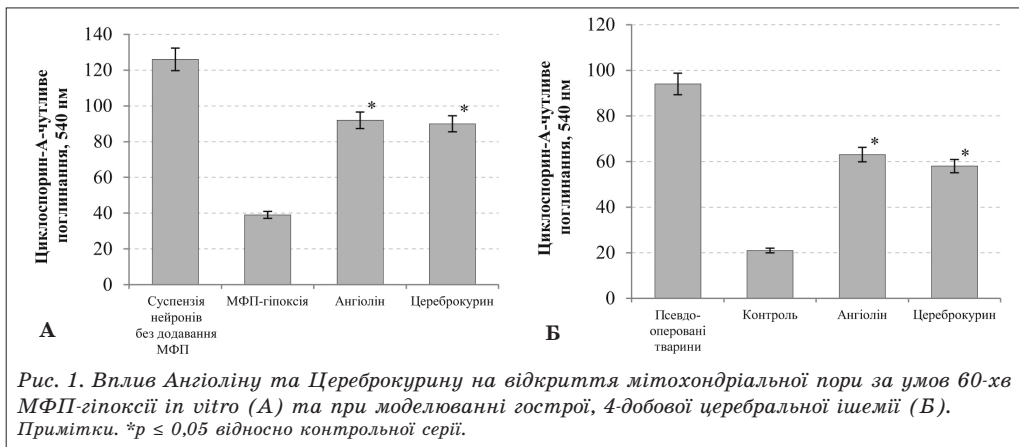
Експериментальні тварини, у свою чергу, були розподілені на нижченаведені серії:

- 1) псевдооперовані тварини (щери, що зазнали усіх маніпуляцій, окрім безпосередньої оклюзії загальної сонної артерії);
- 2) контроль (тварини з 4-добовою оклюзією загальної сонної артерії);
- 3) тварини з 4-добовою церебральною ішемією та курсовим введенням Ангіоліну (50 мг/кг);
- 4) тварини з 4-добовою церебральною ішемією та курсовим введенням Цереброкурину (150 мг/кг).

Результати дослідження оброблені за допомогою статистичного пакета програм «SPSS 16», «Microsoft Excel 2003», «STATISTICA® for Windows 7.0» (StatSoft Inc.). Нормальність розподілу оцінювали за критерієм Kolmogorov-Smirnov (D) та Lilliefors, Shapiro-Wilk (W). У випадку розподілення відмінного від нормального, або аналізу порядкових змінних використовували Mann-Whitney U. Для двох не пов'язаних вибірок та для більшого числа вибірок – критерій Kruskal-Wallis H з подальшим порівнянням за Games-Howell. Порівняння груп за якісною ознакою проводили за допомогою критерію χ^2 з аналізом таблиць зв'язаності. Дані представлені у виді середнього арифметичного та стандартної похибки репрезентативності середнього значення. Взаємозв'язок між досліджуваними змінними проводили, використовуючи процедуру бінарного регресійного аналізу. Для всіх видів аналізу статистично значимими вважа-

ли відмінності при рівні значущості не менше 0,05.

Результати та їх обговорення. Моделювання МФП-індукованої гіпоксії *in vitro* призводило до суттєвих змін функціонального стану мітохондрій та розвитку мітохондріальної дисфункції. Звертає на себе увагу різке падіння енергетичного заряду мітохондрій (більш ніж на 70 %) відносно суспензії нейронів без внесення МФП (табл. 2). Крім того, реєстрували збільшення проникності мітохондрій, що виражалося зменшенням циклоспорин-А-чутливого світлопоглинання (рис. 1). Паралельно з цими змінами відбувалося падіння індексу фосфорилювання та термодинамічного контролю дихання мітохондрій. Подібні функціональні зміни мітохондрій зумовили погіршення їхньої ультраструктури. Так, МФП-індукована гіпоксія призводила до появи набряклих мітохондрій з конденсованим матриксом та зниженою електронною щільністю. Реєстрували велику кількість пошкоджених крист (рис. 2). Інтенсивність встановлених нами ультраструктурних змін відображалася підвищенням загальної кількості пошкоджених мітохондрій відносно суспензії без внесення МФП (табл. 1). Подібні ультраструктурні зміни були типовими для гіпоксичних пошкоджень тканин, що знайшло своє відображення в роботах М. М. Боголепова [18]. Дійсно, при проведенні дослідів *in vivo* нами було встановлено, що гостра церебральна ішемія супроводжувалася подібними ультраструктурними змінами мітохондрій на тлі розвитку



Таблиця 1

Вплив Ангіоліну та Цереброкуруну на кількість пошкоджених мітохондрій за умов гіпоксії *in vitro* та *in vivo*

Серія (n = 10)	Кількість пошкоджених мітохондрій (абсолютне значення)
<i>In vitro</i>	
Суспензія нейронів без внесення МФП	8,0 ± 1,5
МФП-гіпоксія (контроль)	60,0 ± 4,8
МФП-гіпоксія + Ангіолін, 10 ⁻³ М	29,6 ± 3,8*
МФП-гіпоксія + Цереброкурин, 40 мкл/г тканини	32,0 ± 3,6*
<i>In vivo</i>	
Псевдооперовані щури	6
Ішемія, 4 доба (контроль)	74,0 ± 4,8
Ішемія, 4 доба + Ангіолін, 50 мг/кг	55,0 ± 3,9**
Ішемія, 4 доба + Цереброкурин, 150 мг/кг	68,0 ± 3,5*

Примітки. * $p \leq 0,05$ відносно контролю; ** $p \leq 0,05$ відносно Цереброкуруну.

їхніх функціональних порушень (падіння заряду мітохондрій, ІФ, ТКД, відкриття мітохондріальної пори) (табл. 1; 2).

Так, 4-добова церебральна ішемія характеризувалася пошкодженням ультраструктури нейронів та мітохондрій СА1 зони гіпокампа за вакуолярно-літичним типом. Порушення ультраструктури нейронів мали мозаїчний характер, частина нейроцитів була з ознаками некротичних та некробіотичних змін. Більшість нейронів містили ядра з ознаками значного зменшення функціональної активності, фрагментованою нуклеолемою. У перикаріоні спостерігали вакуолярно-літичне пошкодження органел. Крім того, у нейронах СА1 зони спостерігали явище хроматоліза – набухання та вакуолізації цистерн

пластинчастого апарату з деформацією цистерн та їхньою фрагментацією. Більшість мітохондрій були збільшені в розмірі, мали фрагментовану зовнішню мембрану, зруйновані кристи. Іноді спостерігали мітохондрії гігантських розмірів за рахунок значного набряку матриксу (рис. 3). Крім того, було зафіксовано незначну кількість мікромітохондрій з гетероморфною структурою. На тлі встановлених нами ультраструктурних порушень нейронів та їхніх мітохондрій було зафіксовано значне збільшення загальної кількості (на 90 %) пошкоджених мітохондрій порівняно з псевдооперованими тваринами, що відображало встановлену нами в дослідях *in vitro* та *in vivo* загальну спрямованість деструктивних процесів за умов гіпоксії (табл. 1).

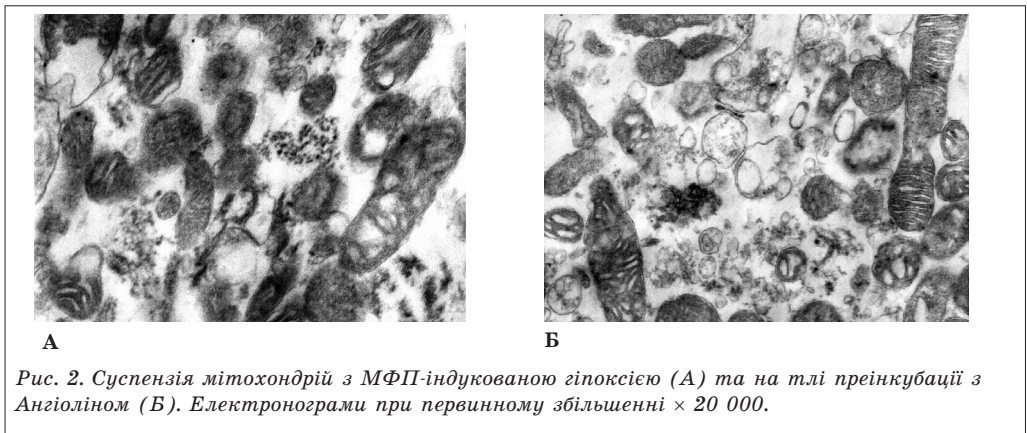


Рис. 2. Суспензія мітохондрій з МФП-індукованою гіпоксією (А) та на тлі преінкубації з Ангіоліном (Б). Електронोगрами при первинному збільшенні $\times 20\,000$.

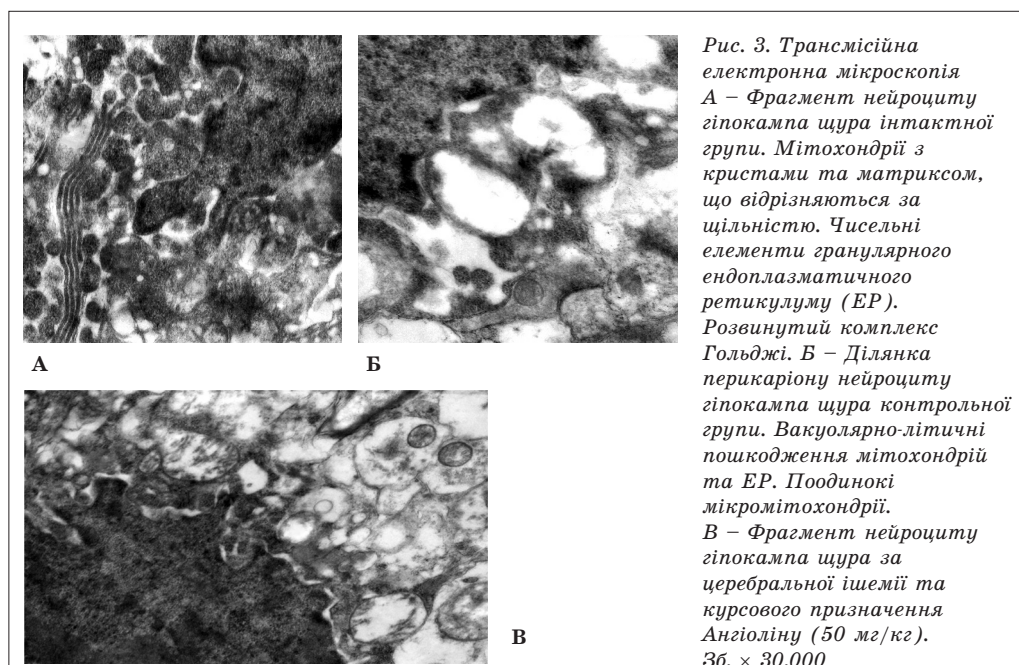
Показники функціональної активності мітохондрій за умов гіпоксії *in vitro* та *in vivo* та за впливу Ангіоліну та Цереброкуруину

Серія (n = 10)	ЕЗ	ЕП	ІФ	ТКД
<i>In vitro</i>				
Суспензія нейронів без внесення МФП	2,280 ± 0,061	7,50 ± 0,11	5,400 ± 0,041	22,80 ± 0,13
МФП-гіпоксія (контроль)	0,68 ± 0,04	4,200 ± 0,028	2,290 ± 0,048	12,700 ± 0,066
МФП-гіпоксія + Ангіолін, 10 ⁻³ М	1,900 ± 0,058*	6,800 ± 0,064*	4,900 ± 0,073*	18,500 ± 0,031*
МФП-гіпоксія + Цереброкуруин, 40 мкл/г тканини	2,00 ± 0,04*	7,100 ± 0,085*	4,70 ± 0,03*	17,200 ± 0,064*
<i>In vivo</i>				
Псевдооперовані щури	0,880 ± 0,017	5,60 ± 0,02	4,20 ± 0,03	16,60 ± 0,05
Ішемія, 4 доба (контроль)	0,580 ± 0,014	1,68 ± 0,02	1,20 ± 0,14	4,50 ± 0,04
Ішемія, 4 доба + Ангіолін, 50 мг/кг	0,87 ± 0,02*	6,10 ± 0,02*	4,90 ± 0,07*	17,20 ± 0,06*
Ішемія, 4 доба + Цереброкуруин, 150 мг/кг	0,850 ± 0,034*	5,400 ± 0,014*	4,80 ± 0,04*	16,90 ± 0,031*

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

Корекція морфофункціональних порушень мітохондрій Ангіоліном та Цереброкуруином призводила до статистично значимих змін. Як видно з таблиці 2, внесення до інкубаційного

середовища Ангіоліну (10⁻³ М) та Цереброкуруину (40 мкл/г тканини) та їхнє курсове призначення тваринам з гострою церебральною ішемією призводило до покращання функціонального



стану мітохондрій. З таблиці 2 видно, що на тлі внесення в інкубаційне середовище Ангіоліну відбувалося підвищення ЕЗ, ЕП, ІФ та ТКД у середньому на 64 %, 38 %, 53 % та 31 % відносно показників суспензії нейронів з МФП-індукованою гіпоксією відповідно. Важливо зазначити, що паралельно з цим відбувалося статистично достовірне відносно контрольної суспензії обмеження відкриття мітохондріальної пори. Подібна дія Ангіоліну також була встановлена при проведенні досліджень *in vivo*. На тлі введення Ангіоліну щурам з 4-добовою ішемією було зареєстровано покращання енергетичного метаболізму (підвищення ЕЗ, ЕП, ІФ, ТКД – на 33 %, 72 %, 75 %, 73 %) та зменшення проникності мембран мітохондрій порівняно з показниками контрольної групи тварин.

При вивченні ефектів Цереброкуруну нами також було зареєстровано його вплив на досліджені показники. Ефекти Цереброкуруну були односпрямовані з ефектами Ангіоліну. Так, при внесенні його в суспензію нейронів з МФП-гіпоксією реєстрували покращання енергетичного метаболізму (підвищення ЕЗ, ІФ, ТКД) на тлі зменшення відкриття МП. Подібна дія була зареєстрована також за умов моделювання церебральної ішемії. Курсове призначення Цереброкуруну (150 мг/кг) сприяло коригуванню енергетичного метаболізму тканини головного мозку та зменшенню явищ мітохондріальної дисфункції порівняно з контрольною групою тварин.

Позитивна дія Ангіоліну та Цереброкуруну на клітинний енергетичний метаболізм та схоронність мітохондрій за умов гострої ішемії проявлялася в покращанні під їхнім впливом морфологічної ультраструктури нейронів та їхніх мітохондрій (табл. 1; рис. 3). На тлі призначення досліджуваних препаратів порушення ультраструктури нейронів мали більш різноманітний характер порівняно з тваринами контрольної групи. У перикаріоні реєстрували помірну дезорганізацію гранулярного ретикулуму з утворенням вакуолеподібних цистерн. Більшість нейронів містили ядра з активною нуклеоплаз-

мою. Нуклеолема була стабільною, без фрагментації. Окрім поодиноких нейронцитів з ознаками некробіотичних змін спостерігали фігури апоптозу. В основному – це початкові стадії апоптичних процесів, що розвивалися за мітохондріальним типом. Подібний вплив Ангіоліну та Цереброкуруну на процеси клітинної гибелі є, на нашу думку, ключовим моментом їхньої дії. Відомо, що апоптотична загибель нейронів є оптимальним, упорядкованим процесом припинення життєдіяльності деструктивно змінених нейронів, при якому стабілізуються клітинні мембрани, уміст клітин утилізується шляхом утворення фігур апоптотичних тілець та їхнього фагоцитозу, без розвитку запального процесу. На тлі терапії Ангіоліном і Цереброкуруном мітохондрії нейронів були різноманітними за структурою. Спостерігали збільшені в розмірах мітохондрії з вакуолярним типом пошкодження, без ознак пошкодження зовнішніх мембран з помірним кристолізисом, електронно-прозорим матриксом; не виявляли гігантських мітохондрій. Частина мітохондрій була з відносно стабільними кристами, невеликих розмірів. Кількість мікромітохондрій суттєво не відрізнялася від контрольної групи, однак усі вони мали стабільні зовнішні мембрани та кристи, гомогенний матрикс без електронно-щільних включень.

Привертало увагу суттєве зменшення загальної кількості пошкоджених мітохондрій. У дослідях *in vitro* та *in vivo* досліджувані препарати зменшували кількість мітохондрій з ознаками пошкодження. Так, за умов МФП-гіпоксії зменшення склало в середньому 50 %. За моделювання церебральної ішемії на тлі введення Ангіоліну кількість пошкоджених мітохондрій знижувалася більше, ніж на 26 % відносно контролю. Ефекти Ангіоліну, як видно з таблиці 1, статистично достовірно перевищували показники Цереброкуруну, при введенні якого зменшення кількості пошкоджених мітохондрій склало 8 %.

Таким чином, проведеними експериментальними дослідженнями *in vitro* та *in vivo* встановлено, що новий оригі-

нальний препарат Ангіолін та вітчизняний нейропептидний препарат Цереброкурин проявляють комплексну енерготропну дію, яка обумовлена їхньою здатністю підвищувати енергетичний заряд мітохондрій, індекс фосфорилування, термодинамічний контроль дихання, а також обмежувати розвиток мітохондріальної дисфункції. Проявом їхньої енерготропної дії було покращання ультраструктури нейронів та їхніх мітохондрій, а також зменшення загальної кількості пошкоджених мітохондрій.

Механізм дії Цереброкуруну, на нашу думку, пояснюється, перш за все, його високою антиоксидантною активністю, що було продемонстровано нашими попередніми дослідженнями [19, 20]. Так, Цереброкурин здатен модулювати експресію глобальних факторів транскрипції, відповідальних за синтез ключових ферментів антиоксидантної активності – каталази, супероксиддисмути. Антиоксидантна активність дозволяє Цереброкуруну протидіяти окисній деструкції білків – переносників у дихальному ланцюгу мітохондрій за розвитку оксидативного стресу при ішемічному пошкодженні головного мозку, обмежуючи тим самим розвиток мітохондріальної дис-

функції та покращуючи енергообмін мозкової тканини.

Механізм дії Ангіоліну пов'язаний, по-перше, з наявністю в його молекулярній структурі SH-груп та його здатністю зв'язувати цитотоксичні деривати АФК, тим самим обмежуючи розвиток оксидативного стресу, що, у свою чергу, запобігає відкриттю мітохондріальної пори. Крім того, за рахунок SH-груп Ангіолін захищає транскрипційні фактори від окисної модифікації, а також підтримує редокс-гомеостаз у клітині. По-друге, Ангіолін здатен підвищувати вміст в тканинах головного мозку цитопротекторних HSP- та HIF-білків, що ймовірно зумовлено потенціюванням його антиоксидантного ефекту за рахунок введення до хімічної структури залишку лізину, який, у свою чергу, стабілізує третинну структуру HSP-білків.

Таким чином, новий вітчизняний препарат оригінальної структури L-лізин 1,2,4-тріазоліл-5-тіоацетат з робочою назвою Ангіолін, а також вітчизняний нейропептидний препарат Цереброкурин є високоєфективними препаратами з енерготропним механізмом дії, здатними доповнити базисну терапію та підвищити ефективність лікування гострої стадії ішемічного інсульту.

1. Клініко-нейрофізіологічна оцінка когнітивних функцій у хворих за хронічної ішемії головного мозку в період відновлення після хірургічного втручання / Л. Л. Чеботарьова, І. В. Степаненко, М. В. Глоба [та ін.] // Укр. нейрохірургіч. журн. – 2014. – № 1. – С. 10–15.
2. Дубенко О. Є. Причини і наслідки лакунарних інсультів головного мозку / О. Є. Дубенко, Г. Є. Костровська, С. Л. Костровський // Укр. неврологіч. журн. – 2007. – № 1. – С. 7–10.
3. Swerdlow R. H. Mitochondrial Medicine and the Neurodegenerative Mitochondriopathies / R. H. Swerdlow // Pharmaceuticals. – 2009. – № 2. – P. 150.
4. Лукьянова Л. Д. Регуляторная роль митохондриальной дисфункции при гипоксии и ее взаимодействие с транскрипционной активностью / Лукьянова Л. Д., Дудченко А. М. // Вестн. РАМН. – 2007. – № 2. – С. 3–13.
5. Mitochondrial preconditioning: a potential neuroprotective strategy / S. C. Correia, C. Carvalho, S. Cardoso [et al.] // Front Aging Neurosci. – 2010. – V. 26, № 2. – P. 138.
6. Huss J. D. Mitochondrial energy metabolism in heart failure: a question of balance / J. D. Huss, D. P. Kelly // J. Clin. Invest. – 2005. – V. 115. – P. 547–555.
7. Лукьянова Л. Д. Дисрегуляция аэробного энергетического обмена – типовой патологический процесс / Л. Д. Лукьянова // Дисрегуляционная патология. – М.: Медицина, 2002. – С. 188–215.
8. Антигипоксическая активность бис(N-ацетил-L-цистеинато)цинк(II)сульфат октагидрата в динамике острой нормобарической гипоксии / А. В. Евсеев, М. А. Евсеева, Э. А. Парфенов, В. А. Правдивцев // Психофармакология, биология, наркология. – 2006. – Т. 6, № 3. – С. 1270–1274.
9. Скромец А. А. Новые возможности нейропротекции в лечении ишемического инсульта / А. А. Скромец, Л. В. Стаховская, А. А. Белкин // Журн. неврологии и психиатрии. – 2008. – Т. 22. – С. 32–38.
10. Егоров А. А. Эндотелиотропные свойства L-лизина эсцината при моделировании ОНМК / Егоров А. А. // Тез. докл. II Междунар. молодежного мед. конгресса, С.-Петербург, 5-7 дек. 2007 г. – СПб., 2007. – С. 180.

11. Effect of Spin Trapping Compound PBN and Thiotriazoline on the Outcome from experimental Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats / I. Belenichev, S. Pavlov, E. Sokolik [et al.] // Molecular Pharmacology. – 2011. – V.1, Issue 3. – P. 90–95.
12. Павлов С. В. Вплив тільних антиоксидантів на вміст стрес-білка HSP 70 у гіпокампі монгольських щанок з гострою ішемією головного мозку / С. В. Павлов // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 1 (26). – С. 15–18.
13. Энерготропный механизм церебропротективной дії нового оригинального препарата «Лізиній» за умов моделювання гострого порушення мозкового кровообігу / І. Ф. Беленічев, С. В. Павлов, Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 4–5. – С. 14–18.
14. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов / И. С. Чекман, Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев [и др.]. – К.: ДФЦ МОЗ Украины, 2010. – 81 с.
15. Павлов С. В. Влияние нейропептидных препаратов на показатели энергетического метаболизма в головном мозге крыс с экспериментальной острой ишемией / С. В. Павлов // Загальна патологія та патологічна фізіологія – 2011. – Т. 6, № 4. – С. 84–89.
16. Павлов С. В. Вплив тільних антиоксидантів на розвиток мітохондріальної дисфункції при моделюванні гострої ішемії головного мозку / С. В. Павлов // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2013. – № 1 (18). – С. 112–115.
17. Авцын А. П. Ультраструктурные патологии клетки / А. П. Авцын, В. А. Шалхамов. – М.: Наука, 1979. – 320 с.
18. Боголепов Н. Н. Ультраструктура мозга при гипоксии / Н. Н. Боголепов. – М.: Медицина, 1979. – 163 с.
19. Павлов С. В. Влияние нейропептидных препаратов на показатели энергетического метаболизма в головном мозге крыс с экспериментальной острой ишемией / С. В. Павлов // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2011. – Т. 6, № 4. – С. 84–89.
20. Павлов С. В. Влияние Цереброкурина на содержание HSP 70 белка в ткани мозга крыс в условиях моделирования церебральной ишемии / С. В. Павлов // Перспективы медицины та біології. – 2012. – Т. IV, № 2. – С. 95–98.

І. Ф. Беленічев, С. В. Павлов, Л. І. Кучеренко

Нейро- та мітопротективний ефекти Ангіоліну та Цереброкурину

Експериментальними та клінічними дослідженнями антигіпоксанти показано перевагу препаратів з метаболітотропним типом дії. До таких препаратів можна віднести синтезований у Запорізькому державному медичному університеті новий лікарський засіб оригінальної структури – L-лізін 1,2,4-тріазоліл-5-тіоацетат з робочою назвою Ангіолін. З іншого боку, як нашими попередніми дослідженнями, так і роботами інших дослідників, встановлено виражений енерготропний та нейропротективний ефекти вітчизняного нейропептидного препарату Цереброкурин. *Мета дослідження* – вивчення впливу Ангіоліну та Цереброкурину на ультраструктуру нейронів та їхніх мітохондрій за умов гіпоксії *in vitro* та *in vivo*.

З метою моделювання гіпоксії *in vitro* до нейрональної суспензії вносили роз'єднувач тканинкового дихання – метилфенілтетрагідропіридин (МФП). Ішемію головного мозку моделювали шляхом двобічної оклюзії загальної сонної артерії. Відкриття мітохондріальної пори визначали спектрофотометрично за циклоспорин-А-чутливим поглинанням при 540 нм. Для оцінки процесів енергетичного обміну та функціональної активності мітохондрій розраховували наступні показники – енергетичний заряд, енергетичний потенціал, індекс фосфорилування, термодинамічний контроль дихання. Для електронно-мікроскопічних досліджень тканину головного мозку або суспензію мітохондрій фіксували в 3 % розчині глутаральдегіду. Далі за стандартною схемою заливали в епоксидну смолу Епон-812.

Проведеними експериментальними дослідженнями *in vitro* та *in vivo* встановлено, що Ангіолін та Цереброкурин проявляють комплексну енерготропну дію, зумовлену їхньою здатністю підвищувати енергетичний заряд мітохондрій, індекс фосфорилування, термодинамічний контроль дихання, а також обмежувати розвиток мітохондріальної дисфункції. Проявом їхньої енерготропної дії було покращання ультраструктури нейронів та їхніх мітохондрій. Крім того, при МФП-гіпоксії *in vitro* Ангіолін та Цереброкурин зменшували кількість пошкоджених мітохондрій у середньому на 50 %. За умов моделювання церебральної ішемії та введення Ангіоліну кількість пошкоджених мітохондрій знижувалася більш ніж на 26 % відносно контролю; Цереброкурин був менш ефективний, зменшення кількості пошкоджених мітохондрій склало 8 %.

Встановлений спектр дії досліджуваних препаратів є експериментальним обґрунтуванням їхнього введення до базисної терапії з метою підвищення ефективності лікування гострої стадії ішемічного інсульту.

Ключові слова: Ангіолін, Цереброкурин, ішемічне пошкодження *in vitro* та *in vivo*, ультраструктура мітохондрій

Экспериментальными и клиническими исследованиями антигипоксантов показано преимущество препаратов с метаболитотропным типом действия. К таким препаратам можно отнести синтезированный в Запорожском государственном медицинском университете новый лекарственный препарат оригинальной структуры L-лизин 1,2,4-триазолил-5-тиоацетат с рабочим названием Ангиолин. Кроме того, нашими предыдущими исследованиями и работами других авторов продемонстрирован выраженный энерго- и нейротропный эффекты отечественного нейропептидного препарата Цереброкурина. *Цель исследования* – изучение влияния Ангиолина и Цереброкурина на ультраструктуру нейронов и их митохондрий в условиях гипоксии *in vitro* и *in vivo*.

С целью моделирования гипоксии *in vitro*, в нейрональную суспензию вносили разобщитель тканевого дыхания – метилфенилтетрагидропиридин (МФП). Ишемию головного мозга моделировали путем двусторонней окклюзии общей сонной артерии. Открытие митохондриальной поры регистрировали спектрофотометрически по циклоспорин-А-чувствительному поглощению при 540 нм. Для оценки процессов энергетического обмена и функциональной активности митохондрий рассчитывали следующие показатели: энергетический заряд, энергетический потенциал, индекс фосфорилирования, термодинамический контроль дыхания. Для электронно-микроскопических исследований ткань головного мозга или суспензию митохондрий фиксировали в 3 % растворе глутаральдегида. Далее по стандартной схеме заливали в эпоксидную смолу Эпон-812.

Проведенными экспериментальными исследованиями *in vitro* и *in vivo* установлено, что Ангиолин и Цереброкурин проявляют комплексное энерготропное действие, которое обусловлено их способностью повышать энергетический заряд митохондрий, индекс фосфорилирования, термодинамический контроль дыхания, а также ограничивать развитие митохондриальной дисфункции. Проявлением их энерготропного действия было восстановление ультраструктуры нейронов и их митохондрий. Кроме того, при МФП-гипоксии *in vitro* Ангиолин и Цереброкурин уменьшали количество поврежденных митохондрий в среднем на 50 %. В условиях моделирования церебральной ишемии, на фоне введения Ангиолина количество поврежденных митохондрий уменьшалось более чем на 26 % по отношению к контролю; цереброкурин оказался менее эффективным, снижение количества поврежденных митохондрий составило 8 %.

Установленный спектр действия исследуемых препаратов является экспериментальным обоснованием введения их в базисную терапию с целью повышения эффективности лечения острой стадии ишемического инсульта.

Ключевые слова: Ангиолин, Цереброкурин, ишемическое повреждение *in vitro* и *in vivo*, ультраструктура митохондрий

I. Belenichev, S. Pavlov, L. Kucherenko

Neuro- and mitoprotective effects of the Angiolin and Cerebrocurin

Nowadays it was showed priority of the antihypoxants with methabolitotropic effect in experimental and clinical studies. Such medication is L-lysine 1,2,4-triasolil-5-thioacetate, named Angiolin that was synthesized in the pharmaceutical chemistry department in Zaporizhia state medical university. This medication includes structural fragments of the thiotriasolin and L-lysine. Our previous studies, as other investigator's too, showed high energotropic and neurotropic effects of the other neuropeptide drug Cerebrocurin. *Aim of the study* was to investigate influence of the Angiolin and Cerebrocurin on the ultrastructure of the neurons and their mitochondria in conditions of the *in vivo* and *in vitro* hypoxia.

Methylphenylpyridinium (MPP) was added to the neuronal suspension to disunite tissue breathing for modeling of the *in vitro* hypoxia. Cerebral ischemia was modeled by bilateral arteria carotis occlusion. Energy methabolism and functional activity of the mitochondria were assessed on energy charge, energy potential, phosphorylation index, thermodynamic breathing control. Brain tissue was fixed with 3% solution of the glutaraldehyde for further microscopic studies. Then it was coated in epoxy resin Epon-812.

Experimental *in vitro* and *in vivo* data indicated that new original medication Angiolin and Cerebrocurin have complex energotropic activity. They increased energy potential, phosphorylation index, thermodynamic breathing control of the mitochondria, prevented mitochondrial dysfunction onset. There were positive changes of the neurocyte ultrastructure, decrease of the general quantity of the injured mitochondrias indicated as energotropic activity. In conditions of the model pathology with MPP (*in vitro*) mitochondria ultrastructure recovered in average of the 50 % after Angiolin usage. *In vivo* Angiolin had positive effect on the mitochondria structure in 26 %, Cerebrocurin – in 8 % in compared with control group. Such action of the investigated medications is an experimental rationale for their inclusion in the basic therapy to increase the effectiveness an acute stage of ischemic stroke treatment.

Key words: Angiolin, Cerebrocurin, ischemic injury *in vivo* and *in vitro*, ultrastructure of the mitochondria

Надійшла: 08.06.2014 р.

Контактна особа: Павлов Сергій Васильович, кафедра фармакології, Запорізький державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя, 69035.
Тел.: + 38 0977970884. Електронна пошта: zsmu.smu@yandex.ua

А. М. Дорошенко¹, Л. С. Резніченко², С. М. Дибкова², Т. Г. Грузіна²,
А. О. Маранов¹, З. Р. Ульберг², І. С. Чекман¹

Протианемічна активність субстанції наночастинок заліза за умов перорального введення щурам

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

²Інститут біологічної хімії імені Ф. Д. Овчаренка НАН України, м. Київ

Ключові слова: наночастинок заліза,
протианемічна активність, анемія,
препарати заліза

Одним із завдань, що поставлені перед охороною здоров'я на сучасному етапі, є підвищення ефективності лікування анемії, на яку за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я страждає близько чверті населення Землі [1, 2]. Залізодефіцитна анемія (ЗДА) є найчастішим різновидом анемії та розвивається при абсолютній чи відносній недостатності заліза, необхідного для підтримки нормального гемопоєзу.

Основними причинами залізодефіциту є недостатнє надходження заліза з продуктами харчування, неадекватна утилізація заліза при хронічних запальних захворюваннях, порушене всмоктування або надмірна втрата цього мікроелемента [1–3]. ЗДА має велике медико-соціальне значення, тому що підвищує захворюваність і смертність населення [4].

У випадку, якщо встановлена причина ЗДА і на неї спрямоване лікування, замісна терапія препаратами заліза є ключовою для нормалізації рівня гемоглобіну й поповнення запасів заліза в організмі. Перевагу надають пероральному шляху введення препаратів заліза, так як при цьому залучені фізіологічні механізми регуляції всмоктування [5].

Серед препаратів заліза для перорального прийому найчастіше застосовують препарати на основі двовалентного заліза (наприклад, заліза сульфат, заліза глюконат, заліза фумарат) і тривалентного заліза – заліза (III) гідроксиду полімальтозний комплекс [5].

Однак існуючі препарати заліза мають недоліки: недостатню біодоступ-

ність і значний ризик розвитку побічних ефектів. Так, залізо з препаратів на основі заліза (II) сульфату всмоктується на рівні 10–15 %, а біодоступність препаратів тривалентного заліза ще приблизно в 3–4 рази менша [6]. Це пов'язано з меншою розчинністю заліза (III) у лужному середовищі порівняно зі сполуками Fe(II), а також необхідністю відновлення Fe(III) до Fe(II) для всмоктування ентероцитами [7]. У зв'язку з цим дози пероральних препаратів, які застосовують для лікування ЗДА, є відносно високими, так як значна частка діючої субстанції не всмоктується. Так, заліза сульфат для лікування ЗДА у підлітків та дорослих, включаючи вагітних жінок, сьогодні рекомендують призначати в дозі 60–120 мг за елементарним залізом на добу протягом щонайменше 3 місяців [7, 8]. З іншого боку, препарати двовалентного заліза внаслідок відносно швидкого вивільнення значної кількості іонів Fe(II) можуть порушувати прооксидантно-антиоксидантну рівновагу й пошкоджувати внутрішні органи [9–11].

Побічні ефекти при застосуванні пероральних препаратів заліза для феротерапії хворих із ЗДА є частим ускладненням. При застосуванні сполук як дво-, так і тривалентного заліза провідними побічними ефектами є шлунково-кишкові розлади, такі як нудота, печія, біль у животі, запор або пронос. Недостатня переносимість і погіршення комплаєнсу зазвичай розглядається як лімітуючий фактор для тривалої пероральної терапії препаратами заліза [5].

Згідно з даними світової літератури можна зробити висновок про недостатню ефективність і безпечність препара-

тів як дво валентного, так і тривалентного заліза [5, 12–14]. Це робить актуальним пошук нових протианемічних лікарських засобів.

За даними літератури наночастинки оксидів заліза стимулюють метаболізм заліза в організмі, включення цього біометалу до складу гемоглобіну та посилення еритропоезу [15–17]. Це робить перспективним застосування наночастинок оксидів заліза для лікування ЗДА [18, 19]. З огляду на те, що нанорозмірні частинки металів мають більшу біологічну активність на молекулярному рівні, вивчення протианемічних властивостей наночастинок нуль-валентного заліза (НЧЗ) як потенційної субстанції для створення протианемічного лікарського засобу є актуальним [20, 21]. Однак даних щодо біологічної та фармакологічної активності цих нанооб'єктів сьогодні недостатньо.

Мета дослідження – вивчити протианемічну активність субстанції НЧЗ за умов перорального введення щурам.

Матеріали та методи. У роботі використовували субстанцію сферичних НЧЗ розміром 40 нм, синтезовану за оригінальним протоколом в Інституті біоколоїдної хімії імені Ф. Д. Овчаренка НАН України методом хімічної конденсації у водному середовищі шляхом відновлення хлориду заліза (III).

Субстанція НЧЗ охарактеризована як біобезпечна та біосумісна згідно з критеріями, описаними в Методичних рекомендаціях «Оцінка безпеки лікарських нанопрепаратів», затверджених Науково-експертною радою Державного експертного центру МОЗ України (протокол від 26.09.2013 р. № 8) [22]. LD₅₀ субстанції НЧЗ при внутрішньошлунковому шляху введення самкам мишей лінії BALB/c перевищує 5000 мг/кг. Субстанція належить до V класу токсичності за Н. С. Hodge і L. Н. Sterner (практично нетоксичних речовин) [23].

Протианемічну активність НЧЗ при внутрішньошлунковому введенні досліджували на моделі ЗДА. Досліди проводили на 75 самках щурів лінії Wistar із початковою масою 60–90 г, яких було отримано з віварію ДУ «Національний науковий центр «Інститут кардіології імені академіка М. Д. Стражеска» НАМН

України». ЗДА моделювали шляхом утримування дослідних тварин на залізо-дефіцитній дієті протягом 4 місяців. Корм та дистильовану воду тварини отримували *ad libitum*. Контрольних умовно-здорових тварин утримували на дієті з нормальним умістом заліза [24–26].

Дослідження на тваринах проводили з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях від 18 березня 1986 року, Директиви ЄС від 24 листопада 1986 року № 609, Наказу МОЗ України від 13 лютого 2006 року № 66, Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006 р.).

Як препарат порівняння використовували протианемічний засіб, діючою речовиною якого є заліза (III) гідроксид полімальтозний комплекс («Феррум Лек» виробництва Лек, підприємства компанії «Сандоз», Польща/Словенія). Лікарська форма – сироп (концентрація Fe(III) – 10 мг/мл).

Розрахунок дози НЧЗ здійснювали шляхом перерахунку рекомендованої середньої добової терапевтичної дози заліза (III) гідроксиду полімальтозного комплексу для людини (2,85 мг/кг) з урахуванням коефіцієнта видової стійкості [27]. Добова умовно-терапевтична доза субстанції НЧЗ і препарату порівняння для щурів становила 12 мг/кг.

Протианемічні властивості НЧЗ досліджували за умов введення дослідним тваринам умовно-терапевтичної дози НЧЗ (12,0 мг/кг на день, концентрація розчину 10 мг/мл) або 1/10 терапевтичної дози (1,2 мг/кг на день, концентрація розчину 1 мг/мл). Середня маса тварин на початку курсу експериментального лікування становила 220 ± 20 г.

Дослідних тварин розподіляли на 5 груп:

група 1 – контрольні умовно-здорові тварини (n = 15);

група 2 – контрольні тварини із ЗДА без експериментального лікування (контроль анемії, n = 15);

група 3 – тварини із ЗДА, яким протягом 10 діб вводили субстанцію НЧЗ в умовно-терапевтичній дозі (12 мг/кг/добу) (n = 15);

група 4 – тварини із ЗДА, яким протягом 10 діб вводили субстанцію НЧЗ в дозі, що становила 1/10 від умовно-терапевтичної (1,2 мг/кг/добу) (n = 15);

група 5 – тварини із ЗДА, яким протягом 10 діб вводили препарат порівняння в умовно-терапевтичній дозі (12 мг/кг/добу) (n = 15).

Тваринам з контрольних груп (групи 1 і 2) *per os* вводили еквівалентні об'єми розчинника субстанції – воду для ін'єкцій.

Відбір проб крові здійснювали після 1, 5 та 10 діб введення субстанції НЧЗ (по 5 тварин на кожний відбір). Матеріали для аналізу отримували після евтаназії тварин шляхом декапітації під хлороформним наркозом.

Як маркерні показники протианемічної активності субстанції у крові дослідних тварин аналізували концентрацію гемоглобіну (г/л; геміхромним методом), концентрацію заліза сироватки крові (мкмоль/л) та відсоток насичення трансферину залізом (%). Показники крові досліджували з використанням наборів стандартних діагностикумів для клініко-діагностичних та біохімічних лабораторій виробництва ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Дніпропетровськ, Україна) згідно з протоколами виробника. Вимірювання оптичної щільності проб здійснювали за допомогою фотоелектроколориметра КФК-3 (Росія).

Відповідні значення концентрацій гемоглобіну, заліза сироватки крові та відсотка насичення трансферину виражали у відносних одиницях (в. о.) m/m_0 , де m_0 – величина показників у крові контрольних умовно-здорових тварин (група 1), m – величина відповідних показників у крові дослідних анемічних тварин (група 2), анемічних тварин за умов перорального введення наночастинок заліза (групи 3 і 4) та препарату порівняння (група 5).

Статистичну обробку даних проводили за допомогою комп'ютерних програм BioStat 2009 for Windows (v5.8.4) та Microsoft Office Excel 2007. На основі представлених у вигляді в. о. для кожної тварини досліджених показників розраховували значення середніх арифметичних величин (M) і довірчих інтервалів (m). Для визначення статистичної вірогідності між середніми величинами використовували параметричний критерій Стюдента (t) [28]. Зміни показників вважали достовірними з рівнем значимості понад 95 % ($P < 0,05$).

Результати та їх обговорення. У щурів, які отримували залізодефіцитну дієту, спостерігалось достовірне пониження всіх досліджених маркерних показників крові порівняно із умовно-здоровими тваринами, а саме: концентрації гемоглобіну – на 30 % (рис. 1), концентрації заліза сироватки крові – на 60 % (рис. 2), відсотка насичення трансферину – на 40–45 % (рис. 3).

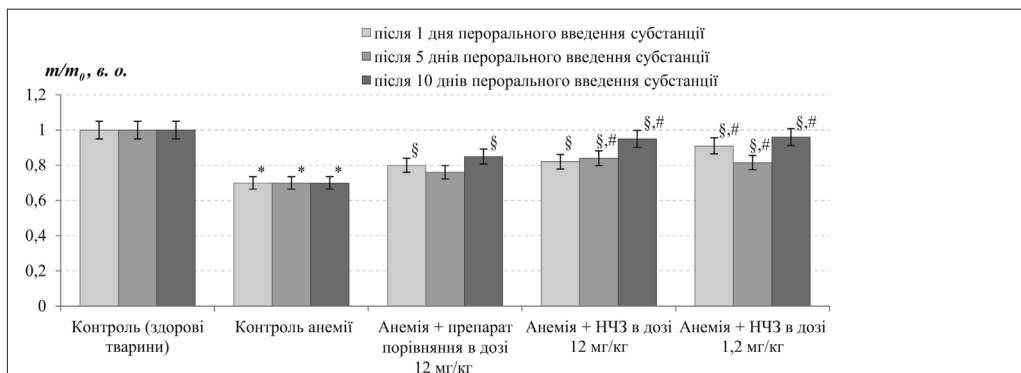


Рис. 1. Концентрація гемоглобіну в крові щурів за умов анемії та через 1, 5 та 10 діб перорального введення наночастинок заліза (n = 5)

Примітка. Тут і на рис. 2, 3: *статистично вірогідно щодо умовно-здорових тварин (контролю), $P < 0,05$; \$статистично вірогідно щодо тварин з анемією, $P < 0,05$;

#статистично вірогідно щодо щурів з анемією, яким вводили препарат порівняння, $P < 0,05$. НЧЗ – наночастинок заліза.

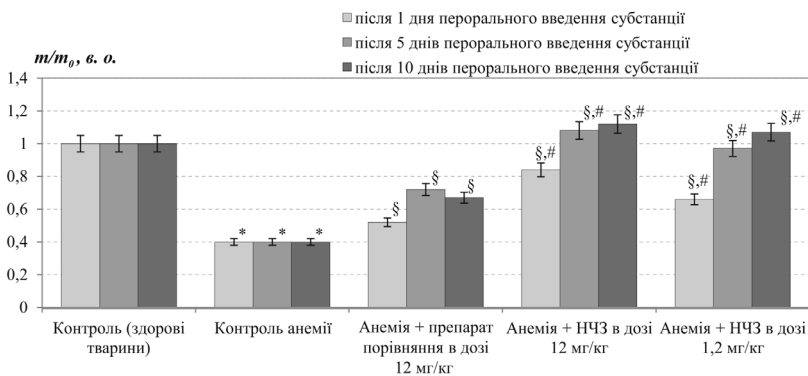


Рис. 2. Концентрація заліза в сироватці крові щурів за умов анемії та через 1, 5 та 10 діб перорального введення наночастинок заліза ($n = 5$)

Пониження рівнів даних показників свідчило про зменшення вмісту заліза в організмі (зокрема його транспортної фракції) та розвиток аліментарної ЗДА у тварин.

Проведеними дослідженнями встановлено, що вже через 1 добу після перорального введення як умовно-терапевтичної дози (12 мг/кг), так і 1/10 умовно-терапевтичної дози (1,2 мг/кг) субстанції НЧЗ спостерігалось підвищення концентрації гемоглобіну в середньому на 20 % порівняно із групою анемічних тварин (рис. 1).

Після 5 діб перорального введення НЧЗ концентрація гемоглобіну в крові дослідних тварин достовірно не змінювалася порівняно із даним показником після 1 доби експериментального лікування (рис. 1).

Через 10 діб після початку перорального введення НЧЗ рівень цього показника в анемічних тварин досягав

контрольних значень умовно-здорових тварин (95–98 %) (рис. 1).

Особливо слід відмітити, що виражену позитивну динаміку змін концентрації гемоглобіну в крові дослідних тварин із ЗДА спостерігали при введенні 1/10 умовно-терапевтичної дози субстанції НЧЗ (рис. 1).

Препарат порівняння (заліза (ІІІ) гідроксиду полімальтозний комплекс) за умови перорального введення призводив до підвищення концентрації гемоглобіну в крові анемічних тварин. Проте динаміка підвищення цього показника була виражена менше порівняно з впливом субстанції НЧЗ (рис. 1). Так, через 10 діб після перорального введення препарату порівняння рівень гемоглобіну в анемічних тварин підвищувався в середньому на 25 % порівняно з початковими значеннями та сягав 85 % рівня цього показника для умовно-здорових тварин.

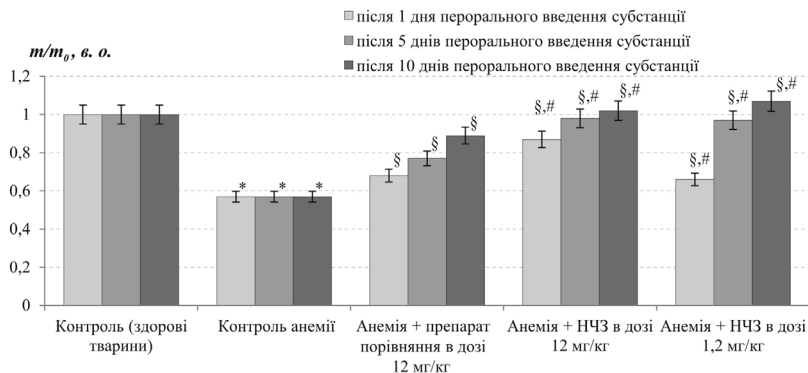


Рис. 3. Насичення трансферину залізом у крові щурів за умов анемії та через 1, 5 та 10 діб перорального введення наночастинок заліза ($n = 5$)

Таким чином, отримані дані щодо динаміки зміни концентрації гемоглобіну в крові дослідних тварин із модельною ЗДА свідчать про більш виражену протианемічну активність субстанції НЧЗ порівняно із препаратом порівняння (заліза (III) гідроксиду полімальтозний комплекс).

Аналіз динаміки зміни концентрації заліза в сироватці крові дослідних тварин свідчить про більшу фармакологічну активність субстанції НЧЗ порівняно з препаратом порівняння (рис. 2).

Так, під впливом субстанції НЧЗ у добовій дозі як 12 мг/кг (умовно-терапевтична доза), так і 1,2 мг/кг (1/10 умовно-терапевтичної дози) вже через 5 діб уміст заліза в сироватці крові анемічних тварин сягав контрольного рівня умовно-здорових тварин (рис. 2). Ця тенденція зберігалася й після 10 діб введення субстанції.

Разом з тим, препарат порівняння в умовно-терапевтичній дозі 12 мг/кг викликав менш виражене підвищення рівня заліза в сироватці крові (рис. 2). Після 10 діб перорального введення препарату порівняння вміст заліза в сироватці крові дорівнював у середньому 60–70 % від значень цього показника в здорових тварин.

Аналіз динаміки насичення трансферину залізом під впливом НЧЗ свідчить про виражену протианемічну активність субстанції (рис. 3).

Значення показника насичення трансферину сягали 75–80 % контрольного рівня умовно-здорових тварин уже через 1 добу після введення субстанції НЧЗ як у дозі 12 мг/кг, так і в дозі 1,2 мг/кг (рис. 3).

Через 5 діб даний показник під впливом субстанції НЧЗ у крові анемічних тварин становив 100 % контрольного значення для умовно-здорових тварин (рис. 3).

Під впливом препарату порівняння динаміка насичення трансферину залізом у сироватці крові дослідних тварин була менш вираженою. Так, через 5 діб після введення препарату порівняння анемічним щурам значення цього показника становило 70–80 % від контрольного значення для умовно-здорових тварин і не перевищувало 85–90 % після

10 діб експериментального лікування (рис. 3).

При розробці потенційних лікарських засобів для перорального застосування з наночастинками як активної фармацевтичної субстанції важливим є питання проникнення нанооб'єктів крізь стінку шлунково-кишкового тракту в процесі їхнього всмоктування. Отримані дані щодо вираженої протианемічної активності субстанції НЧЗ при пероральному введенні дозволяють припустити високу біодоступність даних нанооб'єктів у шлунково-кишковому тракті.

Згідно з даними літератури переміщення частинок крізь кишковий бар'єр є багатоступеневим процесом, який включає дифузію в слизовий шар, взаємодію з ентероцитами та/чи М-клітинами пейєрових бляшок та проходження крізь клітини (шляхом трансцитозу) або парацелюлярно [29, 30]. Процес всмоктування частинок залежить від їхнього розміру. Так, за даними Р. Janі та співавторів ефективніше абсорбуються менші частинки полістирену (50 нм) порівняно з більшими частинками (100 нм) [31]. При цьому більші частинки накопичувалися в підслизовому шарі та лімфоїдних утвореннях стінки кишечника, тоді як менші потрапляли в кров і акумулювалися в печінці та селезінці, а частинки розміром 300 нм не всмоктувалися.

Нещодавно встановлено, що наночастинки оксидів заліза при пероральному введенні всмоктуються в шлунково-кишковому тракті, накопичуються переважно в таких органах-мішенях, як печінка та селезінка, і навіть проходять крізь гемато-енцефалічний бар'єр [32, 33]. При цьому абсорбція наночастинок є також розмір-залежною: наночастинки 30 нм абсорбуються в шлунково-кишковому тракті значно ефективніше порівняно із мікрочастинками (близько 2,15 мкм) [33]. Вірогідно, подібна закономірність стосується й наночастинок металічного заліза. Так, при пероральному введенні щурам порошку металічного заліза з розміром частинок від 5–30 нм до 6–9 мкм показано, що нанорозмірні частинки проникали в слизову оболонку стінки

кишечника крізь епітеліальний бар'єр як парацелюлярно, так і шляхом трансцитозу [34].

Накопичення наночастинок у печінці та селезінці, які беруть участь у обміні заліза в організмі, вірогідно є передумовою високої протианемічної активності наночастинок оксидів заліза. За даними літератури виражені протианемічні властивості показані як при внутрішньовенному, так і пероральному введенні наночастинок оксидів заліза, у тому числі модифікованих аскорбіновою кислотою [15, 35]. Вищенаведені властивості наночастинок оксидів заліза є підґрунтям для вивчення та клінічного застосування ферумокситолу – першого ін'єкційного лікарського засобу, який містить суперпарамагнітні наночастинок оксиду заліза та затверджений Food and Drug Administration у 2009 році для лікування ЗДА у дорослих пацієнтів із хронічною хворобою нирок [19].

Дослідження зі встановлення протианемічної активності НЧЗ при пероральному введенні проведене вперше. Однак отримані результати з ефективності субстанції НЧЗ при модельній ЗДА за спрямованістю ефекту в цілому відповідають даним світової літератури щодо впливу наночастинок оксидів заліза на основні показники системи крові й обміну заліза в організмі [15, 35].

Висновок

Таким чином, отримані дані свідчать про високу протианемічну активність дослідженої субстанції НЧЗ при лікуванні модельної ЗДА, більш виражену порівняно із дією препарату порівняння (заліза (III) гідроксиду полімальтозного комплексу).

Особливої уваги заслуговує той факт, що НЧЗ виявляли протианемічну активність як в умовно-терапевтичній дозі, так і в 1/10 від умовно-терапевтичної дози.

1. Anaemia in low-income and middle-income countries / Y. Balarajan, U. Ramakrishnan, E. Ozaltin [et al.] // *Lancet*. – 2011. – V. 378, № 9809. – P. 2123–2135.
2. Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005: WHO global database on anaemia / Ed. by B. de Benoist, E. McLean, I. Egli and M. Cogswell. – 2008. – 48 p.
3. Iron Deficiency Anemia. Assessment prevention and control. A Guide for Programme Managers. – Geneva: WHO, 2001. – 114 p.
4. Nissenson A. R. Anemia: not just an innocent bystander? / A. R. Nissenson, L. T. Goodnough, R. W. Dubois // *Arch. Intern. Med.* – 2003. – V. 163, № 12. – P. 1400–1404.
5. Santiago P. Ferrous versus ferric oral iron formulations for the treatment of iron deficiency: a clinical overview / P. Santiago // *ScientificWorldJournal*. – 2012. – V. 2012. – ID 846824.
6. Nagpal J. Iron formulations in pediatric practice / J. Nagpal, P. Choudhury // *Indian Pediatr.* – 2004. – V. 41, № 8. – P. 807–815.
7. British Society of Gastroenterology. Guidelines for the management of iron deficiency anaemia / A. F. Goddard, M. W. James, A. S. McIntyre, B. B. Scott // *Gut*. – 2011. – V. 60, № 10. – P. 1309–1316.
8. Guidelines for the use of iron supplements to prevent and treat iron deficiency anaemia / Ed. by R. J. Stotzfus, M. L. Deryfuss. – INACG, WHO, UNICEF, Washington, DC, USA, 1998. – 39 p.
9. Geisser P. Iron therapy and oxidative stress / P. Geisser // *Met. Based Drugs*. – 1997. – V. 4, № 3. – P. 137–152.
10. Comparative study of gastrointestinal tract and liver toxicity of ferrous sulfate, iron amino chelate and iron polymaltose complex in normal rats / J. E. Toblli, G. Cao, L. Olivieri, M. Angerosa // *Pharmacology*. – 2008. – V. 82, № 2. – P. 127–137.
11. Effects of iron polymaltose complex, ferrous fumarate and ferrous sulfate treatments in anemic pregnant rats, their fetuses and placentas / J. E. Toblli, G. Cao, L. Olivieri, M. Angerosa // *Inflamm. Allergy Drug. Targets*. – 2013. – V. 12, № 3. – P. 190–198.
12. Ineffectiveness of oral iron hydroxide polymaltose in iron-deficiency anemia / G. J. Ruiz-Arguelles, A. Diaz-Hernandez, C. Manzano, G. J. Ruiz-Delgado // *Hematology*. – 2007. – V. 12, № 3. – P. 255–256.
13. Ferrous sulfate versus iron polymaltose complex for treatment of iron deficiency anemia in children / A. V. Bopche, R. Dwivedi, R. Mishra, G. S. Patel // *Indian Pediatr.* – 2009. – V. 46, № 10. – P. 883–885.
14. Geisser P. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of iron preparations / P. Geisser, S. Burckhardt // *Pharmaceutics*. – 2011. – V. 3, № 1. – P. 12–33.
15. Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity / R. Weissleder, D. D. Stark, B. L. Engelstad [et al.] // *AJR*. – 1989. – V. 152, № 1. – P. 167–173.
16. Biodegradation of magnetite dextran nanoparticles in the rat. A histologic and biophysical study / E. Okon, D. Pouliquen, P. Okon [et al.] // *Lab. Invest.* – 1994. – V. 71, № 6. – P. 895–903.

17. Hepatic cellular distribution and degradation of iron oxide nanoparticles following single intravenous injection in rats: implications for magnetic resonance imaging / K. Briley-Saebo, A. Bjornerud, D. Grant [et al.] // *Cell Tissue Res.* – 2004. – V. 316, № 3. – P. 315–323.
18. Чекман І. С. Клініко-фармакологічні властивості наночастинок заліза / І. С. Чекман, А. М. Дорошенко // *Укр. мед. часопис.* – 2010. – Т. 77, № 3. – С. 44–50.
19. McCormack P. L. Ferumoxytol: in iron deficiency anaemia in adults with chronic kidney disease / P. L. McCormack // *Drugs.* – 2012. – V. 72, № 15. – P. 2013–2022.
20. Чекман І. С. Нанофармакологія / І. С. Чекман // Монографія. – К. : Задруга, 2011. – 424 с.
21. Нанонаука, нанобіологія, нанофармація / І. С. Чекман, З. Р. Ульберг, В. О. Маланчук [та ін.] // Монографія. – К. : Поліграф плюс, 2012. – 328 с.
22. Методичні рекомендації «Оцінка безпеки лікарських нанопрепаратів», затверджені Науково-експертною радою Державного експертного центру МОЗ України (протокол № 8 від 26.09.2013). – К., 2013. – 108 с.
23. Дорошенко А. М. Дослідження гострої токсичності наночастинок заліза при внутрішньшлунковому та внутрішньовенному шляхах введення / А. М. Дорошенко // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* – 2014. – № 1. – С. 26–33.
24. The impact of varying degrees of iron nutriture on several functional consequences of iron deficiency in rats // M. J. Borel, S. H. Smith, D. E. Brigham, J. L. Beard / *J. Nutr.* – 1991. – V. 121, № 5. – P. 729–736.
25. Reeves P. G. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet // P. G. Reeves, F. H. Nielsen, G. C. Fahey Jr. / *J. Nutr.* – 1993. – V. 123, № 11. – P. 1939–1951.
26. Dietary iron-deficient anemia induces a variety of metabolic changes and even apoptosis in rat liver: a DNA microarray study // A. Kamei, Y. Watanabe, T. Ishijima [et al.] / *Physiol Genomics.* – 2010. – V. 42, № 2. – P. 149–156.
27. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. О. В. Стефанова. – К. : ВД «Авіцена», 2002. – 527 с.
28. Лакин Г. Ф. Биометрия: учебное пособие для биологических специальностей ВУЗов / Г. Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.
29. Frohlich E. Models for oral uptake of nanoparticles in consumer products / E. Frohlich, E. Roblegg // *Toxicology.* – 2012. – V. 291, № 1–3. – P. 10–17.
30. Bergin I. L. Nanoparticle toxicity by the gastrointestinal route: evidence and knowledge gaps / I. L. Bergin, F. A. Witzmann // *Int. J. Biomed. Nanosci. Nanotechnol.* – 2013. – V. 3, № 1/2. – P. 163–210.
31. Nanoparticle uptake by the rat gastrointestinal mucosa: quantitation and particle size dependency / P. Jani, G. W. Halbert, J. Langridge, A. T. Florence // *J. Pharm. Pharmacol.* – 1990. – V. 42, № 12. – P. 821–826.
32. Pharmacokinetic parameters and tissue distribution of magnetic Fe₃O₄ nanoparticles in mice / J. Wang, Y. Chen, B. Chen [et al.] // *Int. J. Nanomedicine.* – 2010. – V. 5. – P. 861–866.
33. Comparative study of genotoxicity and tissue distribution of nano and micron sized iron oxide in rats after acute oral treatment / S. P. Singh, M. F. Rahman, U. S. Murty [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2013. – V. 266, № 1. – P. 56–66.
34. A morphological and microanalytical investigation into the uptake of particulate iron across the gastrointestinal tract of rats / J. S. McCullough, G. M. Hodges, G. R. Dickson [et al.] // *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* – 1995. – V. 27, № 1. – P. 119–124.
35. Patent application WO/2010/034319, International classes A61K9/51; A61K38/26; A61P7/06; A61K9/51; A61K38/26; A61P7/00. Magnetite nanoparticles as a single dose treatment for iron deficiency anemia / Salah El-Din T. A., Bakr Mohamed M., Kamel H. M., Abdel Kader M.; assignee Innovative Research and Development Co. (Inrad) (14 El Saudia Building, Gulf Area Heliopolis, Cairo, EG). – № EG2008/000036; filing date 29.09.2008, published 01.04.2010.

**А. М. Дорошенко, Л. С. Рєзніченко, С. М. Дибкова, Т. Г. Грузіна,
А. О. Маранов, З. Р. Ульберг, І. С. Чекман**

Протианемічна активність субстанції наночастинок заліза за умов перорального введення щурам

Розробка нових протианемічних лікарських засобів для ефективного лікування пацієнтів із залізодефіцитною анемією є актуальним завданням у зв'язку з недостатньою ефективністю та безпекою існуючих препаратів.

Мета дослідження – встановити протианемічну активність наночастинок нуль-валентного заліза при пероральному введенні як етапу розробки нового засобу для лікування залізодефіцитної анемії.

Протианемічну активність наночастинок нуль-валентного заліза розміром 40 нм вивчено на аліментарній моделі залізодефіцитної анемії в самок щурів лінії Wistar.

Встановлено, що за дослідженими маркерними показниками (концентрація гемоглобіну й сироваткового заліза крові, % насичення трансферину) наночастинок нуль-валентного заліза мають більш виражену протианемічну дію як в умовно-терапевтичній дозі, так і в дозі, що становить 1/10 від умовно-терапевтичної, порівняно з препаратом полімальтозного комплексу заліза (III) гідроксиду

в умовно-терапевтичній дозі. Отже, наночастинки нуль-валентного заліза є перспективною субстанцією для створення нового протианемічного препарату.

Ключові слова: наночастинки заліза, протианемічна активність, анемія, препарати заліза

**А. М. Дорошенко, Л. С. Резниченко, С. Н. Дыбкова, Т. Г. Грузина,
А. А. Маранов, З. Р. Ульберг, И. С. Чекман**

Противоанемическая активность субстанции наночастиц железа при пероральном введении крысам

Разработка новых противоанемических лекарственных средств для эффективного лечения пациентов с железодефицитной анемией является актуальной задачей в связи с недостаточной эффективностью и безопасностью существующих препаратов. Наночастицы ноль-валентного железа характеризуются значительным потенциалом в этой сфере исследований, так как известно, что наноразмерные частицы металлов имеют высокую биологическую активность.

Цель исследования – установить противоанемическую активность наночастиц ноль-валентного железа при пероральном введении как этапа разработки нового средства для лечения железодефицитной анемии.

Наночастицы ноль-валентного железа размером около 40 нм были синтезированы с использованием разработанного оригинального протокола химического осаждения в водной среде. Противоанемическая активность наночастиц ноль-валентного железа изучена на алиментарной модели железодефицитной анемии у самок крыс линии Wistar.

Установлено, что согласно исследованным маркерным показателям крови (концентрация гемоглобина и сывороточного железа, процент насыщения трансферрина), наночастицы ноль-валентного железа оказывают более выраженное противоанемическое действие как в условно-терапевтической дозе (12 мг/кг/день), так и в дозе, составляющей 1/10 от условно-терапевтической (1,2 мг/кг/день), по сравнению с препаратом полимальтозного комплекса железа (III) гидроксидом в условно-терапевтической дозе (12 мг/кг/день). Следовательно, наночастицы ноль-валентного железа обладают высокой противоанемической активностью и, таким образом, являются перспективной субстанцией для создания нового противоанемического препарата.

Ключевые слова: наночастицы железа, противоанемическая активность, анемия, препараты железа

**А. М. Doroshenko, L. S. Rieznicenko, S. M. Dybkova, T. G. Gruzina,
A. O. Maranov, Z. R. Ulberg, I. S. Chekman**

Antianemic activity of iron nanoparticles' substance after oral administration to rats

Searching and development of new pharmacological substances with antianemic properties for effective treatment of patients with iron deficiency anemia (IDA) are very urgent, because available commercial antianemic preparations demonstrate some disadvantages and side effects, such as low bioavailability, dyspepsia, constipation or diarrhoea. Zero-valent iron nanoparticles (FeNPs) are possessed by high potential in this area according to the well-known biological activity of metal nanoparticles on the molecular level. *The goal of the study* was to establish FeNPs' antianemic activity after oral administration to rats as a step of a novel antianemic preparation development.

FeNPs with average size 40 nm have been synthesized according to the developed original protocol of chemical condensation in water medium. Antianemic activity of FeNPs has been studied on the model of IDA on females of Wistar rats. IDA was modelled using iron deficiency diet. Experimental treatment of IDA has been carried out by oral administrations of FeNPs in common therapeutic (12 mg/kg/day) and 1/10 of therapeutic (1.2 mg/kg/day) doses during 10 days. It has been shown reliable increase of main blood parameters (hemoglobin and iron concentrations, transferrin saturation percentage) up to normal levels of healthy animals compared to anemic control at both doses of FeNPs' substance. The effectiveness of comparison drug (ferri (III) hydroxydi polymaltosum complexus) administered in therapeutic dose (12 mg/kg/day) was reliably lower. Thus, synthesized FeNPs are possessed by enhanced antianemic activity and, as a result, significant potential as pharmacological substance for new class antianemic preparations' development.

Key words: iron nanoparticles, antianemic activity, anemia, iron preparations

Надійшла: 01.06.2014 р.

Контактна особа: Дорошенко Андрій Михайлович, аспірант, кафедра фармакології та клінічної фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 34, просп. Перемоги, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 096 933 13 55. Електронна пошта: amdor@mail.ru

Д. М. Дудікова¹, К. С. Коробкова², І. П. Токовенко²

Антимікоплазмова активність похідних 1-адамантанфенолу

¹ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ²Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України, м. Київ

Ключові слова: мікоплазми, похідні адамантанфенолу, антимікробні засоби

Представники класу *Mollicutes* роду *Mycoplasma* та *Acholeplasma* – бактерії невеликого розміру (100–300 нм), позбавлені клітинної стінки, що є патогенними для людини та багатьох видів тварин. Зазвичай вони колонізують слизові оболонки [1].

Мікоплазми здатні зумовлювати хронічні запалення дихальних та сечових шляхів, статевих органів і суглобів пацієнтів усіх вікових груп. Так, *Mycoplasma pneumoniae* є збудником захворювань верхніх та нижніх дихальних шляхів [2], викликає внутрішньоутробні інфекції, вади розвитку плода [3, 4], може бути етіологічним фактором гострого гломерулонефриту [5]. *M. pneumoniae* в асоціації з стафілококами та вірусами здатна ускладнювати перебіг менінгітів та інших захворювань центральної нервової системи та черепно-мозкових нервів [6, 7].

Представники роду *Acholeplasma* виділені практично в кожного виду живих організмів: рослин, комах, рептилій, птахів, ссавців та людини. Вони є однією з п'яти найпоширеніших причин забруднення клітинних культур і збудником хвороб рослин. *A. modicum* викликають захворювання респіраторної та сечостатевої системи багатьох видів тварин, у тому числі великої рогатої худоби та гризунів [8, 9].

Антимікоплазмову активність виявляють тетрацикліни, макроліди, лінкозаміди, аміноглікозиди та фторхінолони. Механізм дії цих препаратів зумовлений пригніченням синтезу білка на рибосомах (тетрацикліни, макроліди, лінкозаміди та аміноглікозиди), або порушенням процесів реплікації та транскрипції ДНК у клітинах збудника (фторхінолони).

Мікоплазми є природно резистентними до препаратів, які порушують синтез компонентів клітинної стінки (пеніциліни, цефалоспорины).

Необхідно відмітити, що чутливість до антибіотиків залежить від виду мікоплазм: *M. pneumoniae* чутлива до дії макролідів та тетрациклінів, *M. hominis* – природно резистентна до їхньої дії [10]. Не дивлячись на виразну інгібуючу активність відносно мікоплазм макролідів, кліндаміцин (16-членний макролід) не рекомендований для застосування при інфекціях, викликаних *M. pneumoniae*, оскільки він не завжди проявляє активність *in vivo*. Усі мікоплазми чутливі до дії хінолонів нового покоління [11].

Останніми роками реєструється збільшення кількості резистентних до дії антибіотиків штамів молюкутів. Прикладом є *M. pneumoniae*, частота виділених штамів мікроорганізмів, стійких до дії макролідів, зросла з 5,0 % (2003 р.) до 89,5 % (2011 р.) [12].

Недостатня ефективність сучасних лікарських засобів потребує пошуку нових речовин з виразною антимікробною дією та розробки на їхній основі ефективних та безпечних препаратів. У цьому плані перспективними є похідні аміноадамантану.

Адамантанвмісні сполуки мають широкий спектр активності, пригнічують ріст та розмноження грамположитивних та грамнегативних бактерій та грибів (плісеньутворюючих, дріжджоподібних, дерматомицетів). Антимікробну активність адамантанвмісних сполук наведено в таблиці 1.

При дослідженні механізму інгібуючої дії адамантанвмісних сполук встановлено, що вони здатні порушувати цілісність цитоплазматичної мембрани мікроорганізмів [19]. Підтвердженням

Антимікробна активність похідних адамантану

Шифр сполук	Мінімальна інгібуюча концентрація, мкг/мл				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
ЮК-23 [13]	0,6	10,0	–	0,6	2,5
КВМ-97 [14]	0,6	1,25	2,5	0,6	1,25
АМ-166 [15, 16]	1,25	2,5	–	1,0	1,0
Флуконазол [17]	–	–	–	1,0	–
Лінезолід [18]	2,0	–	–	–	–
Цефепім [18]	–	0,06	2,0	–	–

Примітка. «–» – активність відсутня.

мембранотропної дії сполук, що мають адамантільний радикал, є дослідження їхньої активності щодо мікоплазм, клітин, які не мають клітинної стінки.

Мета дослідження – визначення активності похідних адамантану відносно мікоплазм.

Матеріали та методи. Досліджували сполуки. Для дослідження антибіотичної активності використовували похідні 1-адамантанфенолу (табл. 2), синтезовані в Інституті органічної хімії НАН України канд. фарм. наук Ю. В. Коротким. Як розчинник використовували воду.

Мікробіологічні дослідження. Антимікоплазматичну активність похідних адамантану визначали методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі СМ ІМВ-72 відносно *Acholeplasma modicum* Leach 1973 – ATCC 29102 (NCTC 10134) та *Mycoplasma pneumoniae* ATCC 15531.

Для вирощування тест-мікроорганізмів використовували поживне середовище складу: гідролізат м'язів серця бика – 335,0 мл, настій м'яза серця бика – 335,0 мл, дріжджовий екстракт 25 % – 100,0 мл, ферментний гідролізат казеїну – 2,0 г, ДНК – 0,02 г, натрію хлорид – 5,0 г, сироватка коня – 200 мл, ацетат талію – 0,001 г, бензилпеніцилін – до концентрації 1000 ОД/мл (рН 7,5–7,8).

Мікоплазми вирощували при 32 °С протягом 72 год. Щільність інокуляту становила 10⁹ КУО/мл поживного середовища.

Результати дослідження антимікробної активності враховували через 48–72 год культивування в термостаті при 32 °С за ступенем мутності середовища. За мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) сполук приймали максимальне розведення, при якому не спостерігали зростання мікроорганізмів.

Таблиця 2

Структурні формули похідних 1-адамантанфенолу

Шифр	Структурная формула
ЮК-23	
КВМ-97	
АМ-166	

Інгібуюча дія похідних 1-адамантанфенолу відносно молікунтів

Шифр сполук	Мінімальна інгібуюча концентрація, мкг/мл	
	<i>Acholeplasma modicum</i> ATCC 29102	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> ATCC 15531
ЮК-23	6,25	3,12
КВМ-97	12,50	1,56
АМ-166	6,25	6,25

Результати та їх обговорення. Отримані результати наведено в таблиці 3.

Серед досліджених похідних 1-адамантанфенолу відносно *A. modicum* найактивнішими виявилися сполуки ЮК-23 та АМ-166 (МІК – 6,25 мкг/мл для обох сполук) відносно *M. pneumoniae* – КВМ-97 (МІК – 1,56 мкг/мл).

У результаті проведених експериментів щодо інгібуючої дії похідних адамантану встановлено, що найбільшу інгібуючу активність відносно *M. pneumoniae* виявляла сполука КВМ-97 (МІК – 1,56 мкг/мл).

Порівняно з сучасними антимікробними засобами відносно *M. pneumoniae* похідні 1-адамантанфенолу поступаються за активністю хінолонам (МІК моксифлоксацину 0,12 мкг/мл, левофлоксацину – 0,5–2,0 мкг/мл) та аміноглікозидам (МІК азитроміцину – 0,008–0,120 мкг/мл). У той самий час, досліджені сполуки не поступаються за активністю новому антибіотику еверніміцину, МІК якого відносно *M. pneumoniae* складає 2,0–4,0 мкг/мл відповідно [10].

Похідні 1-адамантанфенолу мають переваги перед лінезолідом, активним відносно *M. hominis* (МІК 2,0-8,0 мкг/мл), проте штами *M. pneumoniae* є нечутливими до його дії (МІК > 64,0) [10].

Цікавим є той факт, що представники роду *Mycoplasma* відрізняються від *Acholeplasma* складом клітинної мембрани та потребою в стеринах для росту клітин. Головним компонентом клітинної мембрани *Mycoplasma* є холестерол, до складу мембрани клітин *Acholeplasma* входять нейтральні глі-

коліпіди – ліпоглікани [20]. Відмінність мембранного складу зумовлює різну чутливість до мембранотропних агентів. Так, ахолеплазми практично не чутливі до дії 1,5 % дигітоніну та амфотерицину В на відміну від мікоплазм. Це пов'язано зі здатністю амфотерицину В та дигітоніну утворювати комплекси зі стеринами мембрани, у результаті чого відбувається дезорганізація ліпідного шару, що призводить до зміни проникності та, можливо, лізису клітин [21, 22].

Отже, можна вважати, що активність похідних 1-адамантанфенолу відносно молікунтів не пов'язана зі складом мембран, сполуки не утворюють комплексів зі стеринами. Це також підтверджується дослідженнями, проведеними відносно дріжджоподібних грибів *C. albicans*. При вивченні впливу похідного 1-адамантанфенолу АМ-166 на синтез ергостерину грибів встановлено, що ця сполука не вступає з ним у хімічну взаємодію [23].

Висновок

Похідні 1-адамантанфенолу впливають на ріст та розмноження молікунтів *Acholeplasma modicum* та *Mycoplasma pneumoniae*, МІК знаходиться в діапазоні концентрацій 1,56–12,50 мкг/мл. Механізм антимікробної дії похідних 1-адамантанфенолу відносно молікунтів зумовлений впливом на внутрішньоклітинні процеси та/або плазматичну мембрану і не пов'язаний з впливом на синтез пептидоглікану клітинної стінки та стеролів клітинної мембрани.

1. Микоплазми / [Борхсениус С. Н., Чернова О. А., Чернов В. М., Вонский М. С.]. – СПб. : «Наука», 2002. – 320 с.
2. Сличак Т. В. Место противовоспалительной терапии при острых респираторных заболеваниях у детей / Т. В. Сличак // Педиатрия. – 2012. – Т. 91, № 5. – С. 67–73.
3. Waites K. B. *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen / K. B. Waites, D. F. Talkington // Clinical Microbiology Reviews. – 2004. – V. 17, № 4. – P. 697–728.

4. Резниченко Г. И. Роль микоплазменной инфекции в развитии хронических воспалительных заболеваний у женщин и детей / Г. И. Резниченко, Ю. Г. Резниченко, Н. Ю. Резниченко // Здоровье ребенка. – 2007. – Т. 3, № 6. – С. 18–21.
5. Laso M. C. Mycoplasma pneumoniae detection with PCR in renal tissue of a patient with acute glomerulonephritis / M. C. Laso, M. E. Cadario, L. Haymes // *Pediatr. Nephrol.* – 2006. – V. 21, № 10. – P. 1483–1486.
6. Septic shock, necrotizing pneumonitis, and meningoencephalitis caused by *Mycoplasma pneumoniae* in a child: a case report / E. R. Barreira, D. C. Souza, P. F. Góes [et al.] // *Clin. Pediatr (Phila).* – 2009. – V. 48, № 3. – P. 320–322.
7. Narita M. Pathogenesis of neurologic manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infection / M. Narita // *Pediatr. Neurol.* 2009. – № 41. – P. 159–166.
8. David S. A. W. Evaluation of *Mycoplasma* inactivation during production of biologics: egg-based viral vaccines as a model / S. A. W. David, D. V. Volokhov, Z. Ye, V. Chizhikov // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2010. – V. 76, № 9. – P. 2718–2728.
9. Isolation of *Acholeplasmatales* from rabbit faeces / A. F. Angulo, M. Doeksen, A. Hill, A. J. Polak-Vogelzang // *Lab. Anim.*, 1987. – V. 21. – P. 201–204.
10. Kenny G. E. Susceptibilities of *Mycoplasma hominis*, *M. pneumoniae*, and *Ureaplasma urealyticum* to GAR-936, dalbopristin, dirithromycin, evernimicin, gatifloxacin, linezolid, moxifloxacin, quinupristin-dalbopristin, and telithromycin compared to their susceptibilities to reference macrolides, tetracyclines, and quinolones / G. E. Kenny, F. D. Cartwright // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001. – V. 45, № 9. – P. 2604–2608.
11. *In vitro* Activity of a New Quinoline Derivative, ER-2 against Clinical Isolates of *Mycoplasma pneumoniae* and *Mycoplasma hominis* / S. Shilpakala, R. Raghavachari, E. Ramesh, R. Malathi // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2009. – V. 53, № 12. – P. 5317–5318.
12. Drug resistance mechanisms of *Mycoplasma pneumoniae* to macrolide antibiotics / X. Liu, Y. Jiang, X. Chen [et al.] // *BioMed Research International*, 2014 [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/320801>.
13. Пат. № 84649, UA, МПК C07C 217/32 (2006.01), A61K 31/14 (2006.01). 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-[N-бензил, N-метил(циклогексил)амоній]-2-пропанол хлорид / Максимов Ю. М., Короткий Ю. В., Вринчану Н. О. та ін.; – власник Інститут фармакології і токсикології АМН України. – № а2007 05294; заявл. 15.05.07; опубл. 10.11.08, Бюл. № 21.
14. Пат. № 89570, UA, МПК C07C 213/00, C07C 215/00, A61K 31/14 (2006.01). 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-(N-бензил, N-диметиламіно)-2-пропанол хлорид / Короткий Ю. В., Максимов Ю. М., Вринчану Н. О. та ін.; – власник Інститут фармакології і токсикології АМН України. – № а200804978; заявл. 17.04.08; опубл. 10.02.10, Бюл. № 3.
15. Вринчану Н. О. Антибактеріальна дія 4-(адамантил-1)-1-(1-амінобутил) бензолу / Н. О. Вринчану // *Мікробіологічний журнал*. – 2007. – Т. 69, № 5. – С. 42–47.
16. Вринчану Н. А. Ингибирующая активность 4-(адамантил-1)-1-(1-аминобутил) бензола по отношению к дрожжеподобным грибам / Н. А. Вринчану // *Успехи медицинской микологии. Пятый Всероссийский Конгресс по медицинской микологии, 19–23 апреля 2007 г.: тезисы докладов.* – Москва, 2007. – Т. IX. – С. 280–281.
17. EUCAST. Antifungal Agents. Breakpoint tables for interpretation of MICs. Version 6.1, valid from 2013-03-11 [Електронний ресурс] - Режим доступу: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Antifungal_breakpoints_v_6.1.pdf.
18. EUCAST. Routine internal quality control as recommended by EUCAST. Version 3.1, valid from 2013-01-01. [Електронний ресурс] – Режим доступу: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/EUCAST_Routine_QC_tables_3.1.pdf.
19. Вринчану Н. О. Дослідження деяких сторін механізму антигрибкової дії нового похідного адамантану / Н. О. Вринчану, О. В. Сергієнко, Ю. М. Максимов // *Морфологія.* – 2009. – Т. III, № 2. – С. 2427.
20. Metabolomic analysis of three mollicute species / A. A. Vanyushkina, G. Y. Fisunov, A. Y. Gorbachev [et al.] // *PLoS One*, – 2014. – V. 9, № 3. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3942410/pdf/pone.0089312.pdf>.
21. Freundt E. A. Activity of herbicolin A against *Mycoplasma*, *Acholeplasma*, *Ureaplasma*, and *Spiroplasma* species / E. A. Freundt, G. Winkelmann // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1984. – V. 26, № 1. – P. 112–114.
22. Rottem S. Differentiation of sterol-requiring from sterol nonrequiring mycoplasmas by Amphotericin B / S. Rottem // *Appl. Microbiol.*, – 1972. – V. 23, № 3. – P. 659–660.
23. Вринчану Н. А. Влияние аминадамантана на синтез эргостерина *C. albicans* / Н. А. Вринчану // *Иммунология, алергология, инфектология.* – 2009. – № 2. – С. 137–138.

Д. М. Дудікова, К. С. Коробкова, І. П. Токовенко

Антимікоплазмозна активність похідних 1-адамантанфенолу

Останнім часом значну увагу приділяють ролі мікоплазм у патогенезі інфекційно-запальних процесів різних систем організму людини.

Мета дослідження – вивчення активності відносно мікоплазм похідних 1-адамантанфенолу – АМ-166, ЮК-23 та КВМ-97.

Мінімальну інгібуючу концентрацію визначали методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі СМ ІМВ-72 відносно *Acholeplasma modicum* і *Mycoplasma pneumoniae*.

Встановлено, що вперше синтезовані похідні 1-адамантанфенолу здатні інгібувати ріст обох штамів. Активність сполуки ЮК-23 відносно *A. modicum* та *M. pneumoniae* становить 6,25 мкг/мл та 3,12 мкг/мл, КВМ-97 – 12,5 мкг/мл та 1,56 мкг/мл відповідно. Активність АМ-166 відносно обох штамів становить 6,25 мкг/мл. Механізм антимікробної дії похідних 1-адамантанфенолу відносно молікутів зумовлений впливом на внутрішньоклітинні процеси та/або плазматичну мембрану і не пов'язаний з впливом на синтез пептидоглікану клітинної стінки та стеролів клітинної мембрани.

Ключові слова: мікоплазми, похідні адамантанфенолу, антимікробні засоби

Д. М. Дудикова, Е. С. Коробкова, И. П. Токовенко

Антимикоплазменная активность производных 1-адамантанфенола

В настоящее время большое внимание уделяется роли микоплазм в патогенезе инфекционно-воспалительных процессов разных систем организма человека.

Цель исследования – изучение антимикоплазменной активности производных 1-адамантанфенола – АМ-166, ЮК-23 и КВМ-97.

Минимальную ингибирующую концентрацию соединений определяли методом серийных разведений в жидкой питательной среде СМ ИМВ-72 в отношении *Acholeplasma modicum* и *Mycoplasma pneumoniae*.

Установлено, что впервые синтезированные производные 1-адамантанфенола способны ингибировать рост обоих штаммов. Активность соединения ЮК-23 в отношении *A. modicum* и *M. pneumoniae* составляет 6,25 мкг/мл и 3,12 мкг/мл, КВМ-97 – 12,5 мкг/мл и 1,56 мкг/мл соответственно. Активность АМ-166 в отношении обоих штаммов составляет 6,25 мкг/мл. Механизм антимикробного действия производных 1-адамантанфенола относительно молликутов обусловлен влиянием на внутриклеточные процессы и/или плазматическую мембрану и не связан с влиянием на синтез пептидогликана клеточной стенки и стеролов клеточной мембраны.

Ключевые слова: микоплазмы, производные адамантанфенола, антимикробные препараты

D. M. Dudikova, K. S. Korobkova, I. P. Tokovenko

Susceptibility of mycoplasmas to 1-adamantane phenol derivatives

Currently, much attention is given to the role of *Mycoplasma* organisms in the pathogenesis of infectious-inflammatory processes of the urogenital and respiratory systems.

The aim of the current study was to investigate antimycoplasmal activity of 1-adamantane phenol derivatives (AM-166, UK-23 and KVM-97). Minimum inhibitory concentrations (MICs) against *Acholeplasma modicum* and *Mycoplasma pneumoniae* were determined by the serial tube dilution method. Serial two-fold dilutions of the compounds in the medium were inoculated with a culture of microorganisms (10^9 colony-forming units/ml) and then incubated at 32 °C for 3 days. *In vitro* data indicate that mycoplasma organisms were sensitive to all compounds tested. Our study indicates that activity of UK-23 against *A. modicum* and *M. pneumoniae* were 6,25 µg/ml and 3,12 µg/ml, KVM-97 – 12,5 µg/ml and 1,56 µg/ml respectively. AM-166 activity was 6,25 µg/ml against both strains.

Mechanism of antimicrobial action of 1-adamantane phenol derivatives against mollicutes caused by effect on intracellular processes and/or the plasma membrane and is not associated with an effect on the synthesis of cell wall peptidoglycan and cell membrane sterols.

Key words: mycoplasmas, adamantane phenol derivatives, antibiotics

Надійшла: 08.05.2014 р.

Контактна особа: Дудікова Дар'я Маратівна, молодший науковий співробітник, відділ фармакології протимікробних засобів, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потьє, м. Київ, 03680. Тел.: +38 0 44 456-83-32.
Електронна пошта: darmardud@gmail.com.

В. Г. Зеленюк¹, І. І. Заморський¹, І. С. Давиденко¹, О. Г. Паливода²

Морфофункціональні зміни в нирках щурів під впливом статинів при гентаміциновій гострій нирковій недостатності

¹Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

²Чернівецьке обласне бюро судово-медичної експертизи

Ключові слова: статини, гентаміцин, гостра ниркова недостатність, морфофункціональне дослідження

Аміноглікозидний антибіотик гентаміцин широко використовується для лікування грамнегативних бактеріальних інфекцій. Проте розвиток у 10–20 % випадках терапії цим антибіотиком нефротоксичності лімітує його застосування. Аміноглікозид-індукована нефротоксичність характеризується повільним підйомом рівня креатиніну плазми, тубулярним некрозом та значним зниженням швидкості клубочкової фільтрації [1, 2]. Серед механізмів нефротоксичної дії гентаміцину відзначають його зв'язування з фосфоліпідами з наступною зміною функції клітинних мембран, ушкодження мітохондрій кори нирок із виснаженням запасів АТФ та розвитком оксидативного стресу [3, 4]. Зміни, викликані гентаміцином, призводять до ушкодження клітин ниркових каналців та подальшого некрозу [5]. За даними D. J. Antoine et al. [6] інгібування гідроксиметилглутарил-коензим А редуктази (ГМГ-КоА редуктаза) призводить до зменшення синтезу ізопентинілпірофосфату, необхідного для функціонування ГТФ-зв'язувальних білків, що беруть участь у адсорбції гентаміцину клітинами проксимальних каналців. Також відомо, що статини поряд зі своєю основною гіполіпідемічною дією здатні виявляти антиоксидантні, протизапальні та імуномодуляторні ефекти [7, 8]. Тому застосування інгібіторів ГМГ-КоА редуктази можна розглядати як потенційний терапевтичний напрям запобігання гентаміцин-індукованій нефротоксичності.

Мета дослідження – з'ясувати вплив статинів (аторвастатину, ловастатину, симвастатину) на функціональний стан та гістоструктуру нирок при гентаміциновій гострій нирковій недостатності (ГНН) у щурів.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 40 нелінійних статевозрілих білих щурах-самцях масою 140–180 г, які знаходилися в умовах віварію з підтриманням постійної температури та вологості з вільним доступом до води та їжі. Тварин розподілили на 5 груп: контрольну, модельної патології та 3 групи лікованих статинами (аторвастатин, ловастатин, симвастатин). ГНН викликали внутрішньом'язовим введенням щурам 4 % розчину гентаміцину сульфату в дозі 80 мг/кг один раз на добу протягом 6 днів [9, 10]. Статини вводили в дозі 20 мг/кг з першого дня застосування гентаміцину внутрішньошлунково в 1 % розчині крохмалю з розрахунку 1 мл суспензії препарату на 100 г маси тіла. Для оцінки функціонального стану нирок на 7 добу експерименту за умов індукованого діурезу (ентеральне введення питної води в об'ємі 5 % від маси тіла) протягом 2 год збирали сечу. Після цього виводили тварин із експерименту шляхом декапітації під тіопенталовим (80 мг/кг) наркозом з метою забору крові та нирок.

Концентрацію креатиніну в плазмі крові визначали за методом Поппера в модифікації Мерзона, у сечі – за методом Фоліна, уміст білка в сечі – за реакцією з сульфосаліциловою кислотою, концентрацію іонів калію та натрію в сечі та плазмі крові оцінювали методом полум'яної фотометрії на «ФПЛ-1» (Україна) [11, 12]. Морфо-

логічні дослідження проводили з використанням гістологічних препаратів, які забарвлені гематоксиліном і еозином з комп'ютерною морфометрією об'єктів (мікроскоп Люмам-Р8, об'єктів $\times 10$, окуляр $\times 10$) у середовищі комп'ютерної програми «ВидеоТест-Размер 5.0» (ТОВ «Видеотест», Росія). Статистичну значущість міжгрупових відмінностей визначали за U критерієм Манна-Уїтні, кореляційний аналіз вибірок здійснювали за коефіцієнтом Спірмена за допомогою програми «Statistica 6.0».

Результати та їх обговорення. Дослідження функціонального стану нирок через 1 добу після останнього введення

гентаміцину показали тяжке ураження нирок щурів групи модельної патології. Притаманна початку розвитку ГНН олігоурична стадія характеризувалася зменшенням діурезу на 85 % та збільшенням концентрації креатиніну в плазмі крові на 80 %, визначальними критеріями для встановлення стадії ураження нирок [13]. Різке падіння швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) у 2,5 разу, зменшення екскреції іонів калію в 2,7 разу, збільшення екскреції іонів натрію та білка в 1,6 та 1,7 разу відповідно свідчать про значне порушення іонорегулювальної та екскреторної функції нирок (таблиця).

Таблиця

Показники функціонального стану нирок щурів за умов гострої ниркової недостатності та впливу статинів, $M \pm m$, $n = 8$

Показник	Інтактний контроль	Модельна патологія	Гостра ниркова недостатність + аторвастатин	Гостра ниркова недостатність + ловастатин	Гостра ниркова недостатність + симвастатин
Діурез, мл/ 2 год	$3,61 \pm 0,17$	$1,95 \pm 0,15$ $p \leq 0,05$	$3,15 \pm 0,15$ $p_1 \leq 0,01$	$3,20 \pm 0,27$ $p_1 \leq 0,01$	$3,51 \pm 0,22$ $p_1 \leq 0,01$
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв	$469,03 \pm 59,20$	$190,94 \pm 21,70$ $p \leq 0,01$	$375,82 \pm 29,00$ $p_1 \leq 0,01$	$372,97 \pm 63,70$ $p_1 \leq 0,01$	$317,97 \pm 46,98$ $p_1 \leq 0,05$
Концентрація креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л	$41,65 \pm 3,21$	$74,37 \pm 5,29$ $p \leq 0,01$	$66,93 \pm 3,84$	$69,91 \pm 4,93$	$65,45 \pm 7,08$
Концентрація білка в сечі, г/л	$0,028 \pm 0,005$	$0,084 \pm 0,008$ $p \leq 0,01$	$0,041 \pm 0,002$ $p_1 \leq 0,01$	$0,047 \pm 0,003$ $p_1 \leq 0,01$	$0,038 \pm 0,003$ $p_1 \leq 0,01$
Екскреція білка з сечею, мг/2 год	$0,099 \pm 0,018$	$0,168 \pm 0,023$ $p \leq 0,05$	$0,129 \pm 0,006$	$0,152 \pm 0,017$	$0,135 \pm 0,014$
Екскреція Na^+ , мкмоль/2 год	$3,71 \pm 0,51$	$5,79 \pm 0,55$ $p \leq 0,05$	$3,79 \pm 0,34$ $p_1 \leq 0,01$	$4,59 \pm 0,50$	$3,79 \pm 0,39$ $p_1 \leq 0,01$
Фільтраційний заряд Na^+ , мкмоль/хв	$63,05 \pm 14,48$	$27,97 \pm 4,12$ $p \leq 0,05$	$50,52 \pm 5,55$ $p_1 \leq 0,01$	$45,21 \pm 5,51$ $p_1 \leq 0,05$	$61,69 \pm 11,69$ $p_1 \leq 0,01$
Проксимальний транспорт Na^+ , ммоль/2 год	$7,56 \pm 1,74$	$3,35 \pm 0,49$ $p \leq 0,05$	$6,06 \pm 0,67$ $p_1 \leq 0,05$	$5,42 \pm 0,66$ $p_1 \leq 0,05$	$7,40 \pm 1,40$ $p_1 \leq 0,01$
Екскреція K^+ , мкмоль/2 год	$27,61 \pm 2,66$	$10,22 \pm 1,11$ $p \leq 0,01$	$19,69 \pm 1,66$ $p_1 \leq 0,01$	$20,08 \pm 1,72$ $p_1 \leq 0,01$	$23,85 \pm 2,53$ $p_1 \leq 0,01$

Примітка. p – вірогідність різниці з даними групи інтактного контролю;

p_1 – вірогідність різниці з даними групи тварин із експериментальною гострою нирковою недостатністю.

При введенні статинів спостерігали помітні позитивні зрушення в роботі нирок, що проявлялося неоднаково в різних групах лікованих тварин. Так, підвищення ШКФ порівняно з групою модельної патології становило 97 %, 95 % та 67 % при застосуванні аторвастатину, ловастатину та симвастатину відповідно. За дії аторвастатину зменшувалися втрати іонів натрію з сечею на 53 %, ловастатину – на 26 %, симвастатину – 53%, що зумовлювалося відновленням проксимального транспорту катіона в середньому на 87 %. Аналогічний вплив продемонстрували препарати і стосовно фільтраційного заряду іонів натрію. Поруху нефротоксичною дією гентаміцину екскрецію іонів калію найкраще відновлював симвастатин – у 2,3 разу, а ловастатин та аторвастатин – у 2,0 та 1,9 разу відповідно. Вагоме зменшення протеїнурії в 2,0; 1,8 та 2,2 разу спостерігали при застосуванні аторвастатину, ловастатину та симвастатину відповідно.

Підтвердженням нефропротекторної дії статинів при гентаміциновій ГНН є також дані морфологічних досліджень. При аналізі гістологічних зрізів нирок щурів з гентаміциновою нефропатією на відміну від інтактного контролю (рис. 1) спостерігали порушення гістоструктури всіх шарів ниркової тканини: явища некрозу в $64,0 \pm 5,2$ % епітеліальних клітин звивистих каналців кіркової речовини ($p \leq 0,05$) з атрофією деяких клубочків (рис. 2), зернисту

дистрофію епітелію збирних трубочок мозкової речовини в $28,0 \pm 1,5$ % клітин ($p \leq 0,05$), явища гідропічної вакуолізації в $51,0 \pm 2,1$ % епітеліальних клітин сосочку ($p \leq 0,05$) (рис. 3). Взаємозв'язок між морфологічними та функціональними змінами в нирках при ГНН відображається кореляцією між протеїнурією ($r = 0,95$), порушенням реабсорбції іонів калію ($r = 0,85$) і натрію ($r = 0,89$) та гідропічним набуханням нефроцитів.

На тлі застосування статинів ділянки некробіозу каналцевого епітелію локалізувалися до 39 % (у середньому для всіх препаратів відносно показника нелікованих тварин з ГНН), атрофованих клубочків не виявляли. Кращі результати спостерігали при введенні тваринам симвастатину (рис. 4): ознаки некрозу звивистих каналців відмічали в $28,0 \pm 2,2$ % клітин ($p \leq 0,05$), а гідропічне набухання – у $19,0 \pm 1,3$ % ($p \leq 0,05$); у сосочку гідропічна вакуолізація складала $24,0 \pm 1,6$ % ($p \leq 0,05$). У групах аторвастатину (рис. 5) та, особливо, ловастатину (рис. 6) ці показники порівняно з групою симвастатину були дещо гіршими: ділянки некрозу в кірковій речовині нирок відмічали на рівні $32,0 \pm 2,1$ % ($p \leq 0,05$) та $56,0 \pm 3,4$ % відповідно, явища зернистої дистрофії в нефроцитах мозкової речовини досягали 23 % у середньому для обох препаратів, гідропічну вакуолізацію виявляли в $28,0 \pm 0,8$ % ($p \leq 0,05$) та $44,0 \pm 2,8$ % клітин сосочка відповідно.

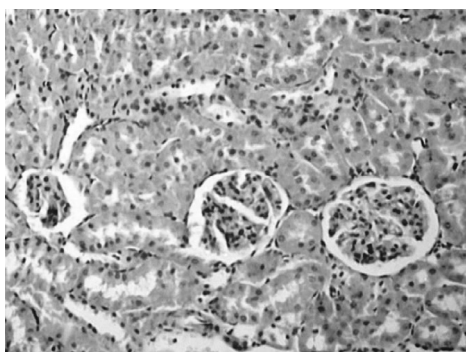


Рис. 1. Препарат нирки інтактного щура на 6 день експерименту
Забарвлення: гематоксилін і еозин.
Об. $10\times$, Ок. $10\times$.

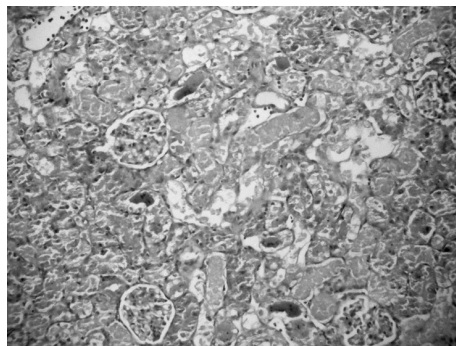


Рис. 2. Препарат кіркової речовини нирки щура з гентаміциновою нефропатією на 6 день експерименту
Забарвлення: гематоксилін і еозин.
Об. $10\times$, Ок. $10\times$.

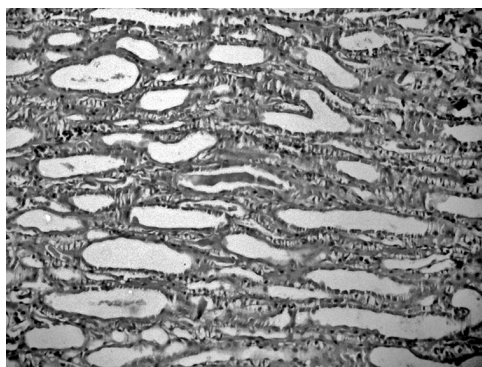


Рис. 3. Препарат сосочка нирки щура з гентаміциновою нефропатією на 6 день експерименту
Забарвлення: гематоксилін і еозин.
Об. 10^x, Ок. 10^x

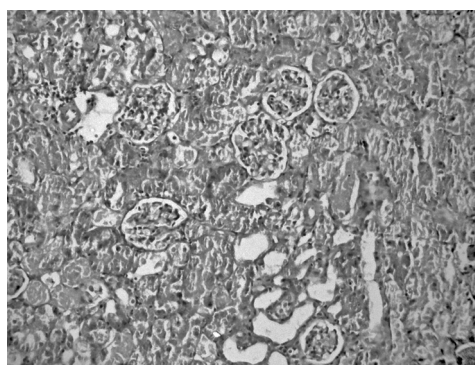


Рис. 4. Препарат кіркової речовини нирки щура за гентаміциновою нефропатії та введення симвастатину
Забарвлення: гематоксилін і еозин.
Об. 10^x, Ок. 10^x.

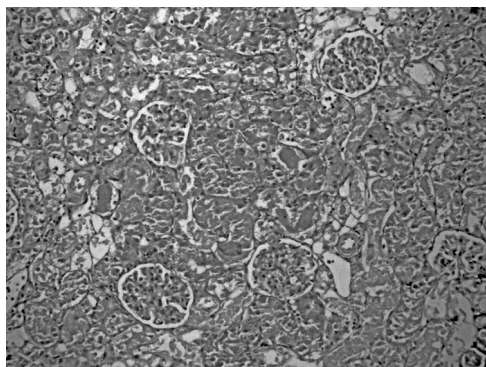


Рис. 5. Препарат кіркової речовини нирки щура за гентаміциновою нефропатії та введення аторвастатину
Забарвлення: гематоксилін і еозин.
Об. 40^x, Ок. 10^x.

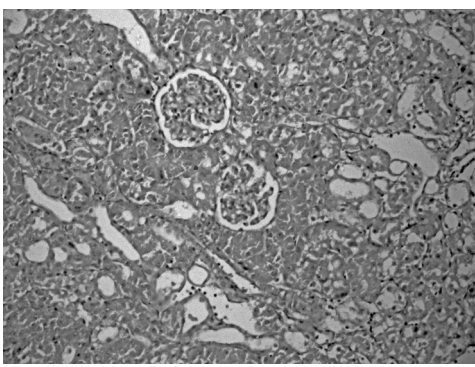


Рис. 6. Препарат кіркової речовини нирки щура за гентаміциновою нефропатії та введення ловастатину
Забарвлення: гематоксилін і еозин.
Об. 10^x, Ок. 10^x.

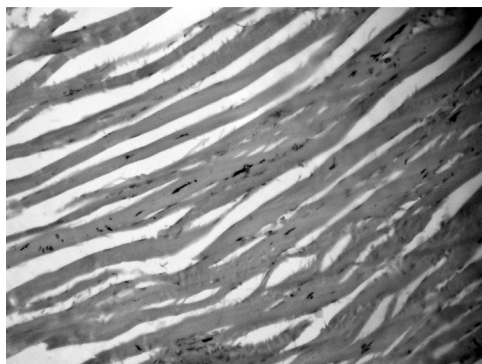


Рис. 7. Препарат скелетного м'яза щура за гентаміциновою нефропатії та введення ловастатину
Забарвлення: гематоксилін і еозин.
Об. 10^x, Ок. 10^x.

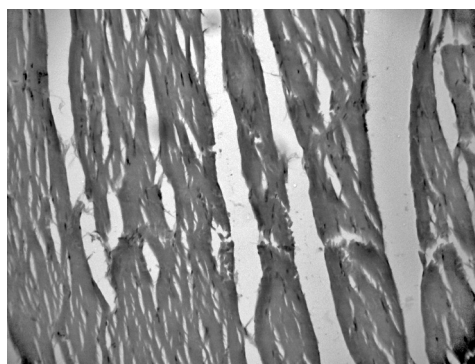


Рис. 8. Препарат скелетного м'яза щура за гентаміциновою нефропатії та введення симвастатину
Забарвлення: гематоксилін і еозин.
Об. 10^x, Ок. 10^x.

При обстеженні зразків м'язів стегна щурів у більшості лікованих статинами тварин не виявлено некрозу міоцитів (рис. 7) – можливого прояву рабдоміолізу – притаманної статинам побічної дії [14]. Проте в окремих гістопрепаратах були наявні незначні прояви міолізу (рис. 8), які, втім, не носили системного характеру та не давали підстав достовірно стверджувати про міотоксичність препаратів за обраного дозування та режиму введення.

Висновок

При гентаміциновій ГНН статини (аторвастатин, ловастатин, симвастатин) у дозі 20 мг/кг виявляють нефропротекторні властивості, що проявляються нормалізацією гістоструктури нирок, зменшенням вираженості протеїнуриї та натрійурезу, збільшенням ШКФ та діурезу, причому застосування препаратів не призводило, у цілому, до розвитку побічної дії у вигляді міолізу.

1. Martinez-Salgado C. Glomerular nephrotoxicity of aminoglycosides / C. Martinez-Salgado, F. J. Lopez-Hernandez, J. M. Lopez-Novoa // *Toxicol. Appl. Pharm.* – 2007. – № 223. – P. 86–98.
2. Tavafi M. Inhibitory effect of olive leaf extract on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats / M. Tavafi, H. Ahmadvand, P. Toolabi // *IJKD.* – 2012. – V. 6, № 1. – P. 25–32.
3. Melatonin administration prevents the nephrotoxicity induced by gentamicin / E. Ozbek, Y. Turkoz, E. Sahna [et al.] // *BJU Int.* – 2000. – V. 85, Iss. 1. – P. 742–746.
4. Simvastatin ameliorates gentamicin-induced renal injury in rats / M. Jabbari, Z. Rostami, A. Jenabi [et al.] // *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.* – 2011. – V. 22, Iss. 6. – P. 11861–1186.
5. Simmons C. F. Inhibitory effects of gentamicin on renal mitochondrial oxidative phosphorylation / C. F. Simmons, R. T. Bogusky, H. D. Humes // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1980. – № 214. – P. 709–715.
6. Statins inhibit aminoglycoside accumulation and cytotoxicity to renal proximal tubule cells / D. J. Antoine, A. Srivastava, M. Pirmohamed, B. K. Park // *Biochem. Pharmacol.* – 2010. – V. 79, Iss. 4. – P. 647–654.
7. Davignon J. The antioxidant effects of statins / J. Davignon, R. F. Jacob, R. P. Mason // *Coron. Artery Dis.* – 2004. – V. 15, Iss. 5. – P. 251–258.
8. Antioxidant effects of statins / L. L. Stoll, M. L. McCormick, G. M. Denning, N. L. Weintraub // *Drugs Today (Barc).* – 2004. – V. 40, Iss. 12. – P. 975–990.
9. Методи експериментального моделювання ураження нирок при фармакологічних дослідженнях: Методичні рекомендації ДФЦ України / С. Ю. Штригіль, В. М. Лісовий, І. А. Зупанець [та ін.]. – К., 2009. – С. 9–10.
10. Animal models of acute renal failure / A. P. Singh, A. Muthuraman, A. S. Jaggi [et al.] // *Pharmacological Reports.* – 2012. – № 64. – P. 31–44.
11. Рябов С. И. Функциональная нефрология / С. И. Рябов, Ю. В. Наточин. – СПб. : Лань, 1997. – 304 с.
12. Maciel A. T. Physicochemical analysis of blood and urine in the course of acute kidney injury in critically ill patients: a prospective, observational study / A. T. Maciel, M. Park, E. Macedo // *Anesthesiology.* – 2013. – V. 13. – P. 1–11.
13. Correlation between the AKI classification and outcome / M. Ostermann [et al.] // *Critical Care.* – 2008. – V. 12, Iss. 6. – P. 1–10.
14. Bosch X. Current concepts: rhabdomyolysis and acute kidney injury / X. Bosch, E. Poch, J. M. Grau // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – V. 361, № 1. – P. 62–72.

В. Г. Зеленюк, І. І. Заморський, І. С. Давиденко, О. Г. Паливода **Морфофункціональні зміни в нирках щурів під впливом статинів при** **гентаміциновій гострій нирковій недостатності**

Статини поряд зі своєю основною гіполіпідемічною дією здатні виявляти антиоксидантні, протизапальні та імунomodulatory ефекти. Тому застосування інгібіторів ГМГ-КоА редуктази можна розглядати як потенційний терапевтичний напрям запобігання гентаміцин-індукованій нефротоксичності.

Мета дослідження – виявити нефропротекторні властивості статинів (аторвастатину, ловастатину, симвастатину) при гентаміциновій гострій нирковій недостатності у щурів.

Експеримент виконано на 40 білих щурах, розділених на 5 рівних груп. Гостру ниркову недостатність викликали внутрішньом'язовим введенням щурам 4 % розчину гентаміцину сульфату в дозі 80 мг/кг один раз на добу протягом 6 днів. Статини вводили внутрішньошлунково в дозі 20 мг/кг з першого дня застосування гентаміцину, після чого вивчали зміни функціонального стану та гістоструктури нирок.

За результатами експерименту встановлено обширні пошкодження каналців нефрону з розвитком некрозу, що супроводжувались олігурією та протеїнурією, а також значним зменшенням

швидкості клубочкової фільтрації в результаті нефротоксичного впливу гентаміцину. Застосування статинів (аторвастатину, ловастатину, симвастатину) у дозі 20 мг/кг сприяло відновленню сечовиділення та зменшенню концентрації білка в сечі, а також збереженню гістоструктури нирок, що доводить наявність у препаратів нефропротекторних властивостей.

Ключові слова: статини, гентаміцин, гостра ниркова недостатність, морфофункціональне дослідження

В. Г. Зеленюк, И. И. Заморский, И. С. Давиденко, О. Г. Паливода
Морфофункциональные изменения в почках крыс под влиянием статинов при гентамициновой острой почечной недостаточности

Статины наряду со своим основным гиполипидемическим действием способны проявлять антиоксидантные, противовоспалительные и иммуномодулирующие эффекты. Поэтому применение ингибиторов ГМГ-КоА редуктазы можно рассматривать как потенциальное терапевтическое направление предотвращения гентамицин-индуцированной нефротоксичности.

Цель исследования – выявить нефропротекторные свойства статинов (аторвастатина, ловастатина, симвастатина) при токсической острой почечной недостаточности у крыс.

Эксперимент выполнен на 40 белых крысах, разделенных на 5 равных групп. Острую почечную недостаточность вызывали внутримышечным введением крысам 4 % раствора гентамицина сульфата в дозе 80 мг/кг один раз в сутки в течение 6 дней. Статины вводили внутривенно в дозе 20 мг/кг с первого дня применения гентамицина, после чего изучали изменения функционального состояния и гистоструктуры почек

По результатам эксперимента установлены обширные повреждения канальцев нефрона с развитием некроза, сопровождающиеся олигурией и протеинурией, а также значительным уменьшением скорости клубочковой фильтрации в результате нефротоксического воздействия гентамицина. Применение статинов (аторвастатина, ловастатина, симвастатина) в дозе 20 мг/кг способствовало восстановлению мочеиспускания и уменьшению концентрации белка в моче, а также сохранению гистоструктуры почек, что доказывает наличие у препаратов нефропротекторных свойств.

Ключевые слова: статины, гентамицин, острая почечная недостаточность, морфофункциональное исследование

V. G. Zeleniuk, I. I. Zamorskii, I. S. Davydenko, O. G. Palyvoda
Morphofunctional changes in a rat kidney influenced by statins under the conditions of gentamicin-induced acute renal failure

Statins, along with their main hypolipidemic effect are capable to exhibit antioxidant, anti-inflammatory and immunomodulatory effects. Therefore, the use of HMG-CoA reductase inhibitors may be considered as a potential therapeutic approach to prevent gentamicin-induced nephrotoxicity. *The purpose of our work* was to identify the renoprotective properties of statins (atorvastatin, lovastatin, simvastatin) under the conditions of toxic acute renal failure (ARF) in rats.

An experiment was carried using 40 white rats randomly divided into 5 equal groups. ARF was simulated by an intramuscular injection of 4% gentamicin sulfate solution at a dose of 80 mg/kg once a day for 6 days. Statins were administered intragastrically at a dose of 20 mg/kg from the first day of gentamicin application, followed by an examination of the changes in renal functional status and histostructure.

In our experiments was found an extensive damage to the tubules of the nephron with the development of necrosis accompanied by oliguria and proteinuria, as well as a significant decrease in glomerular filtration rate due to the gentamicin nephrotoxic effects. Statins (atorvastatin, lovastatin, simvastatin) at a dose of 20 mg/kg promoted the restoration of urination and reduction of urinary protein concentration, as well as preservation of kidney histostructure, which proves the existence of the renoprotective properties of drugs.

Key words: statins, gentamicin, acute renal failure, morphofunctional study

Надійшла: 11.06.2014 р.

Контактна особа: Зеленюк Володимир Георгійович, аспірант, кафедра фармакології, Буковинський державний медичний університет, буд. 2, Театральна пл., м. Чернівці, 58001.
Тел.: +38 095 334 42 92. Електронна пошта: vzeleniuk@gmail.com

Г. А. Поготова¹, Н. О. Горчакова¹, І. Ф. Бєленічев², І. С. Чекман¹

Особливості антиоксидантних і енерготропних механізмів органопротективної дії препарату омега-3-ненасичених жирних кислот за експериментального токсичного гепатиту

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

²Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: препарат омега-3-ненасичених жирних кислот, токсичний гепатит, енергетичний обмін, прооксидантно-антиоксидантна система

Захворювання печінки та жовчовідних шляхів різної етіології є поширеною патологією травної системи, що має медичне та соціальне значення в зв'язку з розвитком таких важких наслідків, як цироз печінки та гепатоцелюлярна карцинома [1–4]. Патогенез ураження печінкових клітин пов'язують з пошкодженням мембран гепатоцитів за рахунок пониження в них умісту фосфатидилхоліну, метаболічними порушеннями окисно-відновних процесів та розвитком оксидативного стресу, змінами процесів енергоутворення внаслідок пошкодження структури і функцій мітохондрій тощо [4]. Тому лікування захворювань печінки передбачає комплексну фармакотерапію, що включає етіологічну терапію лікарськими засобами, які впливають на чинник захворювання, та патогенетичну терапію медикаментами, здатними поліпшувати структуру й функціональну активність гепатоцитів. Саме дія гепатопротекторів відповідає цим завданням, сприяє підвищенню стійкості гепатоцитів і стимулює в них процеси регенерації [5–7]. Ушкодження гепатоцитів супроводжується порушенням функцій і метаболізму не тільки печінки, але також інших життєвоважливих органів і систем [8], що вимагає призначення лікарських засобів, які, крім реалізації гепатопротекторного ефекту, мають загальну органопротекторну дію [9–11].

Попередньо була встановлена кардіопротекторна дія в препаратів омега-3-ненасичених жирних кислот, що зарекомендували себе як модулятори ліпідного обміну, антиоксиданти та мембраностабілізатори [12, 13]. Тому важливим вважається провести порівняльні дослідження щодо виявлення гепато-, нейро-, кардіопротекторної дії препарату омега-3-ненасичених жирних кислот за токсичного гепатиту.

Мета дослідження – встановити вплив препарату омега-3-ненасичених жирних кислот на показники енергетичного обміну та прооксидантно-антиоксидантної системи в органах щурів за токсичного гепатиту.

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження проводили на 21 нелінійних білих щурах-самцях, отриманих з ПП «Біомодельсервіс» (м. Київ), з масою тіла – 170–190 г. Щурів утримували згідно з Методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України [14]. Щоденно протягом 20 днів усіх тварин зважували й оглядали. Огляд включав оцінку загального стану та поведінки. Для моделювання токсичного гепатиту використовували дихлоретан, який вводили внутрішньощлунково за допомогою металевого зонда щурам у дозі 500 мг/кг 1 раз на день протягом 4 днів у суміші з оливковою олією (1:1). Токсичний гепатит, індукований дихлоретаном, супроводжується високим ступенем вільно-радикального окиснення, окисною модифікацією білків, депривацією глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи, порушенням енергетичного обміну, жировою дистрофією та високим рівнем активності трансаміназ [15]. Як препарат омега-3-

ненасичених жирних кислот (Омега) був обраний Епадол-Нео виробництва Київського вітамінного заводу.

Щурів було поділено на 3 групи по 7 тварин: 1 група – інтактні тварини, 2 група – тварини, яким моделювали токсичний гепатит, 3 група – тварини, яким моделювали токсичний гепатит і з лікувальною метою вводили препарат «Омега». На 5 день експерименту введення токсичного агента припиняли, і протягом 10 днів 1 раз на добу внутрішньошлунково вводили препарат «Омега» у дозі 100 мг/кг після розкриття капсул. Препарат вводили у вигляді суспензії, стабілізованої Твіном-80 (0,01 мл/100 мл). Тваринам 1 та 2 груп вводили внутрішньошлунково в аналогічному об'ємі дистильовану воду з Твіном-80. Біохімічні дослідження проводили на 20-й день експерименту. У цей термін тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг), швидко вилучали печінку, серце та головний мозок, які відразу заморожували в рідкому азоті. Тканини серця, печінки та головного мозку гомогенізували на холоді в сольовому ізотонічному середовищі (0,15 М KCl) при температурі + 4 °C за допомогою скляного гомогенізатора у співвідношенні тканина-сольовий розчин 1:20. Потім з гомогенатів тканин при температурі + 4 °C методом диференційного центрифугування на рефрижераторній центрифугі Sigma 3-30 k (Німеччина) виділяли цитозольну та мітохондріальну фракції в 10-кратному об'ємі середовища наступного складу (у ммольх): сахароза – 250, трис-HCl-буфер – 20, EDTA – 1 (pH 7,4) [16]. Для оцінки інтенсивності оксидативного стресу в цитозольній фракції клітин міокарда, головного мозку та печінки визначали маркери окисної модифікації білка – альдегідфенілгідразони (АФГ) і карбоксифенілгідразони (КФГ) [16]. АФГ і КФГ сьогодні визнані найінформативнішими маркерами оксидативного стресу, які можуть утворюватися внаслідок дії різних вільно-радикальних і окисних механізмів, на відміну від продуктів ліпопероксидації є більш чутливими індикаторами оксидативного ушкодження органа-мішені [9, 15,

16]. Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГПР) та вмістом відновленого глутатіону [16]. Стан енергетичного обміну визначали за рівнем інтермедіатів – АТФ, лактату, пірувату й малату в безбілковому екстракті гомогенату серця, головного мозку та печінки [16].

Аналіз нормальності розподілу отриманих експериментальних даних оцінювали за критеріями Колмогорова-Смирнова (D) і Lilliefors, а також Shapiro-Wilk (W), якому віддавали перевагу. Дані представлено у вигляді середнього значення вибірки та стандартної помилки репрезентативності. У разі розподілу, відмінного від нормального, або аналізу порядкових змінних, використовували U-критерій Mann-Whitney для 2 незалежних вибірок, для більшого числа вибірок – критерій Kruskal-Wallis H з подальшим порівнянням за Games-Howell. Якщо кількість груп становила 2, то статистичну значимість відмінностей оцінювали за допомогою гетероскедастичного t-критерію Gosset U для незв'язаних груп з поправкою Бонферроні.

Результати дослідження оброблено за застосуванням статистичного пакета ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), а також «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». Окремі статистичні процедури і алгоритми реалізовано у вигляді спеціально написаних макросів у відповідних програмах. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. У результаті проведених досліджень встановлено, що моделювання хронічного токсичного гепатиту призводило до ураження основних органів-мішеней: печінки, міокарда та головного мозку експериментальних тварин. Так, у цитозольній фракції печінки, серця та головного мозку нелікованих тварин виявлено вірогідне підвищення маркерів окисної модифікації білка (ОМБ) – АФГ і КФГ на тлі пригнічення анти-

оксидантної системи – активності СОД, ГПР та вмісту відновленого глутатіону. Отримані результати свідчили про активацію оксидативного стресу та пошкодження клітин органів-мішеней за вільнорадикальним механізмом (табл. 1–3).

Курсове призначення препарату «Омега» тваринам з хронічним токсичним гепатитом у лікувальному режимі мало певну захисну дію на органи-мішені. Аналізуючи антиоксидантну дію препарату «Омега», слід зазначити, що цей ефект вірогідно виражений

Таблиця 1

Показники антиоксидантної системи та окисної модифікації білка в печінці щурів за умов дихлоретанового токсичного гепатиту та впливу препарату «Омега»

Група тварин	СОД у.о./мг · хв	ГПР, мкмоль / мг · хв	Глутатіон відновлений, мкмоль/г	АФГ, у.о./г	КФГ, у.о./г
Інтактна	288,2 ± 11,6	123,8 ± 3,2	16,0 ± 0,5	15,3 ± 0,9	7,6 ± 0,2
Дихлоретановий гепатит (контроль)	100,7 ± 7,5*	67,3 ± 2,0*	6,7 ± 0,7*	48,8 ± 3,3*	28,7 ± 1,8*
Дихлоретановий гепатит + пре- парат «Омега»	103,4 ± 15,0*	80,0 ± 5,0**	7,4 ± 0,3*	34,1 ± 1,1**	19,7 ± 1,3**

Примітка. Тут і в табл. 2–6: * $p \leq 0,05$ порівняно з інтактними тваринами; ** $p \leq 0,05$ порівняно з групою контролю.

Таблиця 2

Показники антиоксидантної системи та окисної модифікації білка в міокарді щурів за умов дихлоретанового токсичного гепатиту та впливу препарату «Омега»

Група тварин	СОД, у.о./мг · хв	ГПР, мкмоль / мг · хв	Глутатіон відновлений, мкмоль/г	АФГ, у.о./г	КФГ, у.о./г
Інтактна	287,4 ± 14,6	68,8 ± 3,2	3,2 ± 0,10	13,30 ± 1,29	9,91 ± 0,97
Дихлоретановий гепатит (контроль)	102,0 ± 7,3*	44,2 ± 2,2*	1,9 ± 0,02*	24,26 ± 1,83*	18,62 ± 0,70*
Дихлоретановий гепатит + препа- рат «Омега»	114,0 ± 15,8*	43,3 ± 5,0*	2,03 ± 0,35*	22,25 ± 1,32*	16,12 ± 1,03**

Таблиця 3

Показники антиоксидантної системи та окисної модифікації білка у головному мозку щурів за умов дихлоретанового токсичного гепатиту та впливу препарату «Омега»

Група тварин	СОД у.о./мг · хв	ГПР, мкмоль / мг · хв	Глутатіон відновлений, мкмоль/г	АФГ, у.о./г	КФГ, у.о./г
Інтактна	195,5 ± 12,0	65,5 ± 3,3	5,5 ± 0,3	6,7 ± 0,4	4,12 ± 0,21
Дихлоретановий гепатит (контроль)	108,5 ± 10,0*	45,5 ± 2,7*	3,2 ± 0,2*	10,70 ± 0,84*	7,87 ± 0,34*
Дихлоретановий гепатит + препа- рат «Омега»	102,9 ± 13,0*	47,0 ± 3,0*	3,7 ± 0,3*	9,10 ± 0,54*	7,38 ± 0,41*

щодо показників антиоксидантної системи (СОД, ГПР) та окисної модифікації білка (АФГ, КФГ) у печінці. Препарат «Омега» не впливав на активність антиоксидантних систем міокарда, але вірогідно знижував кінцевий продукт ОМБ у міокарді – КФГ. У той самий час, препарат «Омега» не мав вірогідної дії відносно показників оксидативного стресу в тканині мозку за умов токсичного гепатиту.

Крім того, встановлено, що в цитозольній фракції печінки, серця та головного мозку тварин з хронічним токсичним гепатитом виявлені порушення енергетичного метаболізму. Спостерігали порушення, які проявля-

лися дефіцитом АТФ, дискоординацією в циклі Кребса (зниження малату), лактат-ацидозом і пригніченням вироблення пірувату, що свідчить про порушення процесів гліколізу та енергоутворення (табл. 4–6).

Після курсового введення на фоні хронічного гепатиту препарат не виявляв енерготропної дії за показниками вмісту АТФ, малату та пірувату в печінці, але дещо знижував рівень лактату, тобто зменшував прояви лікуванню ацидозу. Найвираженіший вплив на енергетичний метаболізм препарат «Омега» проявляв стосовно досліджуваних біохімічних показників у міокарді: вірогідно під-

Таблиця 4

Показники енергетичного обміну в печінці щурів за умов дихлоретанового токсичного гепатиту та впливу препарату «Омега»

Група тварин	АТФ, мкмоль/г	Піруват, мкмоль/г	Малат, мкмоль/г	Лактат, мкмоль/г
Інтактна	2,89 ± 0,07	0,73 ± 0,04	0,46 ± 0,02	2,44 ± 0,22
Дихлоретановий гепатит (контроль)	1,44 ± 0,11*	0,43 ± 0,03*	0,21 ± 0,02*	9,72 ± 0,72*
Дихлоретановий гепатит + препарат «Омега»	1,47 ± 0,09*	0,41 ± 0,02*	0,21 ± 0,03*	8,72 ± 0,53*

Таблиця 5

Показники енергетичного обміну в міокарді щурів за умов дихлоретанового токсичного гепатиту та впливу препарату «Омега»

Група тварин	АТФ, мкмоль/г	Піруват, мкмоль/г	Малат, мкмоль/г	Лактат, мкмоль/г
Інтактна	3,75 ± 0,26	0,14 ± 0,01	0,33 ± 0,03	5,60 ± 0,27
Дихлоретановий гепатит (контроль)	2,00 ± 0,16*	0,08 ± 0,01*	0,16 ± 0,02*	10,10 ± 0,47*
Дихлоретановий гепатит + препарат «Омега»	2,67 ± 0,17**	0,11 ± 0,30**	0,13 ± 0,01**	7,12 ± 0,31**

Таблиця 6

Показники енергетичного обміну в головному мозку щурів за умов дихлоретанового токсичного гепатиту та впливу препарату «Омега»

Група тварин	АТФ, мкмоль/г	Піруват, мкмоль/г	Малат, мкмоль/г	Лактат, мкмоль/г
Інтактна	2,90 ± 0,11	0,46 ± 0,01	0,48 ± 0,06	2,32 ± 0,08
Дихлоретановий гепатит	2,00 ± 0,07*	0,22 ± 0,01*	0,34 ± 0,06*	5,52 ± 0,31*
Дихлоретановий гепатит + препарат «Омега»	2,00 ± 0,10*	0,21 ± 0,03*	0,36 ± 0,04*	4,88 ± 0,35*

вищував рівень АТФ, пірувату, малату та знижував – лактату. Разом з тим, препарат «Омега» не впливав на енергетичний метаболізм у мозковій тканині за умов патології. Отримані дані свідчать про наявність гепатопротекторної дії препарату «Омега» при токсичному дихлоретановому гепатиті, яка пов'язана з безпосередньою взаємодією, нейтралізацією вільних радикалів і зменшенням продуктів окисної модифікації білка.

Згідно з отриманими результатами дослідження підтверджено кардіопротекторну дію препарату «Омега», яка реалізується, головним чином, завдяки впливу на показники енергетичного обміну міокарда щурів за умов дихлоретанового токсичного гепатиту. Препарат «Омега» не виявляє органопротекторної дії щодо показників енергетичного обміну, антиоксидантної системи та окисної модифікації білка в тканинах головного мозку. Отримані результати свідчать про можливість включення препарату «Омега» до комплексної фармакотерапії з метою кардіопротекції в гастроентерологічній та кардіологічній клініці.

Висновки

1. За умов дихлоретанового токсичного гепатиту в тканинах печінки, міокарда, головного мозку щурів знижуються показники антиоксидантної системи (СОД, ГПР, глутатіон) та енергетичного обміну (АТФ, піруват, малат), а також підвищується вміст лактату та маркерів ОМБ (АФГ, КФГ).

2. Препарат «Омега» за курсового 10-разового введення щурам (внутрішньощунково, 100 мг/кг) через 20 днів після початку відтворення дихлоретанового гепатиту призводить до нормалізації показників антиоксидантної системи (СОД, ГПР) та окислювальної модифікації білка (АФГ, КФГ) у печінці, вмісту КФГ у міокарді, не діє на показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тканинах головного мозку щурів.

3. Препарат «Омега» за курсового 10-разового введення щурам (внутрішньощунково, 100 мг/кг) через 20 днів після початку відтворення дихлоретанового гепатиту сприяє нормалізації показників енергетичного обміну в міокарді щурів (АТФ, піруват, малат, лактат), знижує вміст лактату в печінці та не впливає на показники енергетичного обміну в мозковій тканині тварин.

1. Saini V. Auto-immune hepatitis following delivery / V. Saini, M. Gupta, S. K. Mishra // J. Indian. Med. Assoc. – 2013. – V. 111, № 5. – P. 341–342.
2. Tandon R. K. Emergence of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) / R. K. Tandon // J. Assoc. Physicians. India. – 2013. – V. 61, № 7. – P. 445–456.
3. Бабак О. Я. Современная гепатология: достижения, проблемы и перспективы / О. Я. Бабак // Сучасна гастроентерологія. – 2013. – Т. 70, № 2. – С. 12–20.
4. Чернова В. М. Патогенетичні механізми і терапевтичні аспекти внутрішньопечінкового холестазу при хронічних захворюваннях печінки / В. М. Чернова, І. Е. Кушнір // Сучасна гастроентерологія. – 2013. – Т. 74, № 6. – С. 100–107.
5. Кучерявий Ю. А. Гепатопротекторы: рациональные аспекты применения : учеб. пособие для врачей / Ю. А. Кучерявий, С. В. Морозов. – М. : Форте Принт, 2012. – 36 с.
6. Овсянникова О. Н. Целесообразность применения таурина в лечении неалкогольной жировой болезни печени / О. Н. Овсянникова, Л. А. Звенигородская // Гастроэнтерология. – 2012. – № 2. – С. 4–9.
7. Скрыпник И. Н. Оценка терапевтических подходов к лечению неалкогольного стеатогепатита в Украине и его взаимосвязь с факторами риска: результаты открытого мультицентрового проспективного исследования DIREG_L_04443 / И. Н. Скрыпник // Сучасна гастроентерологія. – 2013. – Т. 70, № 2. – С. 64–71.
8. Вдовиченко В. І. Поширеність неалкогольної жирової хвороби печінки серед померлих, які страждали на цукровий діабет 2 типу / В. І. Вдовиченко, Х. Б. Аксентійчук // Сучасна гастроентерологія. – 2013. – № 1, Т. 69. – С. 41–46.
9. Метаболитотропные препараты / И. А. Мазур, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев [и др.]. – Запорожье, 2007. – 309 с.
10. Abdoli N. Protective Effects of N-acetylcysteine Against the Statins Cytotoxicity in Freshly Isolated Rat Hepatocytes / N. Abdoli, Y. Azarmi, M. A. Eghbal // Adv. Pharm. Bull. – 2014. – V. 4, № 3. – P. 249–254.

11. Design, synthesis, and biological evaluation of andrographolide derivatives as potent hepatoprotective agents / Tang C., Gu G., Wang B. [et al.] // Chem. Biol. Drug. Des. – 2014. – V. 83, № 3. – P. 324–333
12. Митченко Е. И. Роль и место омега-3-полиненасыщенных жирных кислот в рационе питания пациентов с метаболическим синдромом / Е. И. Митченко, В. Ю. Романов, И. В. Чулаевская // Укр. мед. часопис. – 2011. – Т. 84, № 4. – С. 57–59.
13. Шиш А. М. Омега-3 ПНЖК модулюють функціональний стан прооксидантно-антиоксидантної системи і попереджають набухання мітохондрій серця за умов експериментального ЦД / А. М. Шиш, А. С. Жуковська, О. О. Мойбенко // Мед. гідрологія та реабіліт. – 2012. – Т. 10, № 4. – С. 32–34.
14. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств / А. В. Стефанов. – К. : Авиценна, 2002. – 568 с.
15. Мышкин В. А. Окислительный стресс и повреждение печени при химических воздействиях / В. А. Мышкин, А. Б. Бакиров. – Уфа, 2001. – 176 с.
16. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов / И. С. Чекман, Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев [и др.]. – К., 2010. – 81 с.

Г. А. Поготова, Н. О. Горчакова, І. Ф. Беленічев, І. С. Чекман

Особливості антиоксидантних і енерготропних механізмів органопротективної дії препарату омега-3-ненасичених жирних кислот за експериментального токсичного гепатиту

Органопротекторну активність препарату омега-3-ненасичених жирних кислот досліджували на експериментальній моделі дихлоретанового гепатиту за курсового 10-разового введення внутрішньошлунково в дозі 100 мг/кг. Встановлено, що через 20 днів після початку відтворення патології препарат «Омега» нормалізує показники антиоксидантної системи (СОД, ГПР) та окислювальної модифікації білка (АФГ, КФГ) у печінці, вміст КФГ у міокарді, не впливає на показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тканині головного мозку щурів. Препарат «Омега» також нормалізує показники енергетичного обміну у міокарді щурів (АТФ, піруват, малат), знижує вміст лактату в печінці і не впливає на показники енергетичного обміну в мозковій тканині тварин з токсичним гепатитом.

Ключові слова: препарат омега-3-ненасичених жирних кислот, токсичний гепатит, енергетичний обмін, прооксидантно-антиоксидантна система

Г. А. Поготова, Н. А. Горчакова, И. Ф. Беленичев, И. С. Чекман

Особенности антиоксидантных и энерготропных механизмов органопротекторного действия препарата омега-3-ненасыщенных жирных кислот при экспериментальном токсическом гепатите

Существование мультифакторных звеньев патогенеза гепатитов требует назначения лекарственных средств, которые, кроме гепатопротекторного эффекта, обладают органопротекторным действием. Препараты омега-3-ненасыщенных жирных кислот обладают кардиопротекторным эффектом, являются модуляторами липидного обмена, антиоксидантами и мембраностабилизаторами. Органопротекторную (гепато-, нейро-, кардиопротекторную) активность препарата омега-3-ненасыщенных жирных кислот исследовали на экспериментальной модели дихлорэтанового гепатита при курсовом 10-кратном введении внутрижелудочно в дозе 100 мг/кг в течение 10 дней после воспроизведения патологии. Установлено, что через 20 дней после начала моделирования хронического токсического гепатита происходит поражение основных органов-мишеней: печени, миокарда и головного мозга экспериментальных животных. Так, в цитозольной фракции печени, сердца и головного мозга нелеченных животных выявлено достоверное повышение маркеров окислительной модификации белка (ОМБ) – АФГ и КФГ на фоне угнетения антиоксидантной системы, активности СОД, ГПР и содержания восстановленного глутатиона. Установлено, что препарат «Омега» после воспроизведения дихлорэтанового гепатита нормализует показатели антиоксидантной системы (СОД, ГПР) и окислительной модификации белка (АФГ, КФГ) в печени, содержание КФГ в миокарде и не действует на показатели прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в ткани головного мозга крыс. В цитозольной фракции печени, сердца и головного мозга животных с хроническим гепатитом выявлены нарушения энергетического метаболизма, которые нарушения проявлялись дефицитом АТФ, дискоординацией в цикле Кребса (снижение малата), лактат-ацидозом и подавлением выработки пирувата, что свидетельствует о нарушении процессов гликолиза и энергообразования. Препарат «Омега» нормализовал показатели энергетического обмена в миокарде крыс (АТФ, пируват, малат, лактат), понижал содержание лактата в печени и не влиял на показатели энергетического обмена в мозговой ткани животных. Полученные данные свидетельствуют о наличии гепатопротекторного и кардиопротекторного действия препарата «Омега» при токсическом дихлорэтановом гепатите за счет влияния на показатели энергетического обмена и антиоксидантной системы. При данной

патологии препарат «Омега» не проявляет протекторного действия на метаболизм тканей головного мозга.

Ключевые слова: препарат омега-3-ненасыщенных жирных кислот, токсический гепатит, энергетический обмен, прооксидантно-антиоксидантная система

G. A. Pogotova, N. A. Gorchakova, I. F. Belenichev, I. S. Chekman
Features of antioxidant and energotropic mechanisms of omega-3- unsaturated fatty acids organoprotective action in the experimental toxic hepatitis

The existence of hepatitis multifactorial pathogenesis requires the prescription of drugs, that in addition to hepatoprotective effects, should have organoprotective action. Drugs of omega-3-unsaturated fatty acids (Omega) have cardioprotective effect, they are the modulators of lipid metabolism, antioxidant and membrane stabilizers. Omega organoprotective (hepato-, neuro-, cardioprotective) activity has been studied on rats under dichlorethane hepatitis experimental model (4 intragastric administrations of the toxic agent at the dose of 500 mg/kg). Studies was carried out on the 20th day of pathology process after a course of Omega intragastric administration (10 times at the dose of 100 mg/kg). It was established that the modeling of chronic toxic hepatitis led to the destruction of the major target organs: liver, myocardium and brain of experimental animals. So, in cytosolic fractions of liver, heart and brain untreated animals it has been shown significant elevation markers of oxidative modification of proteins (OMP) - AFG and KFG and background oppression of antioxidant system - superoxidedismutase (SOD) and glutathionperoxidase (GPR) activities, content of reduced glutathione. Also it has been revealed violations of energy metabolism in these target organs such as the deficit of ATP, discoordination in the Krebs cycle (reduction of malate), lactate-acidosis and suppression of the pyruvate production, which testifies to the violation of glycolysis and energy-forming processes. Course Omega administration to rats with toxic hepatitis contributed to the normalization of the antioxidant system (SOD, GPR) and oxidative modification of proteins (AFG, KFG) parameters in the liver, only the content of KPG in myocardium and no effect on the indices of prooxidant-antioxidant homeostasis in the brain of rats. Course Omega administration also normalized the energy metabolism in rats myocardium (ATP, pyruvate, malate, lactate), reduced the content of lactate in the liver and didn't effect on the energy metabolism in the brain tissue of animals. By obtained data course use of Omega has hepatoprotective and cardioprotective actions in toxic dichlorethane hepatitis by the influences on the energy metabolism and antioxidant system. In this pathology Omega has no protective action on the metabolism of brain tissue.

Key word: drug of omega-3-unsaturated fatty acids, toxic hepatitis, energy metabolism, prooxidant-antioxidant system

Надійшла: 12.05.2014 р.

Контактна особа: Че́кман Іван Сергі́йович, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 34, просп. Перемоги, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 454 49 24. Електронна пошта: chekman_ivan@yahoo.co.uk

А. О. Прискока

Дослідження гострої токсичності наночастинок срібла при внутрішньовенному введенні

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

Ключові слова: наночастинок срібла, гостра токсичність, внутрішньовенне введення

Бурхливий розвиток нанотехнологій та наномедицини зокрема призводить до появи великої кількості нових наноматеріалів, що використовуються як біосенсори, носії для лікарських засобів, або ж самі є перспективними лікарськими засобами. Невід'ємною частиною розробки нових потенційних лікарських засобів є їхня токсикологічна оцінка. Одним із початкових етапів цієї оцінки є дослідження токсичності нового потенційного лікарського засобу при одноразовому введенні за різних шляхів застосування. Наночастинок срібла відомі своєю високою протимікробною активністю, на їхній основі створено низку лікарських форм та виробів медичного призначення для зовнішнього застосування [1–6]. Актуальним є також і створення ефективного протимікробного засобу для системного застосування, зважаючи на появу та розповсюдження антибіотико-резистентних штамів. У той самий час аспекти безпечності новостворених наночастинок срібла залишаються недостатньо висвітленими.

У попередніх дослідженнях [7] були виявлені відсутність генотоксичного ефекту *in vivo* та *in vitro*, мутагенної дії даних наночастинок, а також проведені дослідження гострої токсичності наночастинок срібла (НЧС) при внутрішньочеревинному введенні мишам, як одному із шляхів, що забезпечує системний вплив [8]. Тим не менше, враховуючи особливості нанооб'єктів та можливий спосіб медичного застосування досліджуваної субстанції, було доцільним виконати й експеримент із внутрішньовенним введенням наночастинок срібла.

Мета дослідження – вивчення гострої токсичності наночастинок срібла при внутрішньовенному способі введення.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження був колоїдний розчин наночастинок срібла (НЧС) (діаметр 30 нм, сферична форма), синтезованих за оригінальною методикою в Інституті біологічної хімії імені Ф. Д. Овчаренка НАН України з концентрацією 8 мг/мл за металом. Розмір НЧС був обчислений за допомогою лазерно-кореляційної спектроскопії (ЛКС). Вимірювання проводили на лазерно-кореляційному спектрометрі Zetasizer-3 («Malvern Instruments Ltd», Великобританія). Розмір та форма НЧС також підтверджені за допомогою електронно-трансмисійної мікроскопії (JEM-1230, «JEOL», Японія). Гостру токсичність НЧС досліджували на самках та самцях білих нелінійних мишей, у дослідження взято 36 самок та 36 самців вагою 20 ± 2 г, віком 2,0–2,5 міс, яких було поділено на 6 груп по 6 особин (5 дослідних груп та одна контрольна). Усіх тварин утримували в стандартних умовах віварію Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Період карантину становив 5 діб. Дослідження проводили відповідно до «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» [9].

Дослідні групи розподілили відповідно до рівнів доз (50 мг/кг, 75 мг/кг, 100 мг/кг, 125 мг/кг, 150 мг/кг), тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин у максимально допустимому об'ємі – 0,5 мл. НЧС дослідним тваринам, а також фізіологічний розчин вводили одноразово в латеральну хвостову вену. Тварин спостерігали протягом перших 48 год після введення досліджуваної речовини

(за смертністю, поведінкою тварин) та наступних 14 діб. Зважування виконували безпосередньо перед введенням досліджуваної речовини на 3, 7 та 14 добу експерименту. По закінченню дослідження тварин було виведено з експерименту шляхом шийної дислокації. Тварини підлягали розтину, у них були вилучені внутрішні органи для подальших досліджень (печінка, нирки, селезінка, серце, легені, головний мозок) та виконані відповідні статистичні розрахунки LD_{50} . Статистичні розрахунки, а також графічне відображення результатів проводили за допомогою програми BioStat 2009 v 5.8.4. (виробник – Analyst Soft), обраний метод розрахунку – пробіт-аналіз за Finney. Дослідження проводили відповідно до вітчизняних [10] та зарубіжних рекомендацій [11].

Результати та їх обговорення. *Спостереження.* Загалом після внутрішньовенного введення НЧС відмічали наступні симптоми: апное одразу після введення (інколи вже під час введення найвищих доз), або рідкі ковткоподібні дихальні

рухи протягом перших 30 сек – 1 хв, після чого наставала смерть від зупинки дихання, або відновлення дихання та поступове відновлення життєдіяльності протягом 1 год (при дозах 50, 75 та 100 мг/кг). Також одразу після введення НЧС відзначали потемніння радужки ока та блідість видимих ділянок шкірного покриву. У однієї особини (самка з групи № 3 – 100 мг/кг) спостерігали тривале пригнічення рухової активності протягом 1 год після введення НЧС. Протягом наступних днів у деяких тварин (самець з групи № 3 та самка з групи № 2) відмічали численні дрібні крововиливи на шкірі спини, кінцівок, а також виразки на цих ділянках. У всіх групах самців спостерігали позитивну динаміку набору ваги на 3 та 7 добу (табл. 1), що свідчить про швидке відновлення після введення НЧС. У групах самок відмічали дозозалежне зменшення маси тіла на 3 добу на 1,65–6,12 %. При цьому показники маси тіла в групах № 2, № 3, № 4 хоч і збільшувалися протягом періоду спостереження, проте не сягали

Таблиця 1

Динаміка маси тіла мишей після одноразового внутрішньовенного введення наночастинок срібла, g ($M \pm t$)

Група тварин (рівень дози)	Маса тварин, г			
	Вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
<i>Самці</i>				
№ 1 (50 мг/кг)	20,08 $\pm$ 1,93 ¹	20,82 $\pm$ 3,02 ¹	22,27 $\pm$ 2,72 ¹	23,82 $\pm$ 2,77 ¹
№ 2 (75 мг/кг)	20,10 $\pm$ 1,17 ¹	20,15 $\pm$ 1,77 ⁴	20,10 $\pm$ 4,38 ⁴	20,70 $\pm$ 5,23 ⁴
№ 3 (100 мг/кг)	20,97 $\pm$ 0,92 ¹	20,67 $\pm$ 1,24 ³	23,43 $\pm$ 3,09 ³	18,80 $\pm$ 2,55 ³
№ 4 (125 мг/кг)	19,58 $\pm$ 1,38 ¹	–	–	–
№ 5 (150 мг/кг)	19,67 $\pm$ 0,68 ¹	–	–	–
Контроль (фізіологічний розчин)	18,37 $\pm$ 1,24 ¹	19,02 $\pm$ 1,42 ¹	19,67 $\pm$ 1,17 ¹	20,43 $\pm$ 1,06 ¹
<i>Самки</i>				
№ 1 (50 мг/кг)	20,25 $\pm$ 1,29 ¹	19,92 $\pm$ 1,02 ¹	18,53 $\pm$ 1,57 ¹	21,48 $\pm$ 1,59 ¹
№ 2 (75 мг/кг)	19,52 $\pm$ 1,04 ¹	18,53 $\pm$ 1,57 ²	19,30 $\pm$ 1,53 ²	19,45 $\pm$ 1,27 ²
№ 3 (100 мг/кг)	19,88 $\pm$ 1,51 ²	19,08 $\pm$ 1,15 ²	19,53 $\pm$ 1,26 ²	19,78 $\pm$ 1,09 ²
№ 4 (125 мг/кг)	19,07 $\pm$ 0,69 ¹	17,90 $\pm$ 1,13 ⁴	18,35 $\pm$ 1,48 ⁴	18,85 $\pm$ 0,35 ⁴
№ 5 (150 мг/кг)	19,38 $\pm$ 1,35 ¹	–	–	–
Контроль (фізіологічний розчин)	19,55 $\pm$ 1,16 ¹	19,63 $\pm$ 1,30 ¹	19,07 $\pm$ 1,97 ¹	20,32 $\pm$ 2,09 ¹

Примітка. ¹n = 6; ²n = 4; ³n = 3; ⁴n = 2; n – кількість тварин у групі

вихідних значень навіть на останню добу експерименту, що свідчить про гіршу переносимість самками введення дослідних наночастинок.

Результати розтинів. При розтині в більшості тварин суттєвих макроскопічних змін у внутрішніх органах не виявлено. У таблиці 2 відображені масові коефіцієнти внутрішніх органів. Середні значення масових коефіцієнтів органів у дослідних групах статистично не відрізнялися від значень у контрольних ($p = 0,05$), однак, у окремих особин з груп № 1, № 3 (самці), а також № 3, № 4 (самки) відмічене значне збільшення селезінки. У двох особин з груп № 1 та № 3 (самки) при розтині виявлено гіперемію черевини та кишківника.

Статистичні розрахунки LD_{50} . Дані щодо смертності тварин наведено в таблиці 3. Криві залежності «log10 доза-ефект» зображені на рисунку. Пологість кривої для самок може свідчити про суттєві відмінності в чутливості окремих особин щодо введених НЧС [12]. У той самий час крива залежності «log10 доза-ефект» для самців вказує на те, що більша частина досліджуваної популяції реагувала на введення НЧС приблизно однаково. Статистична обробка даних показала, що LD_{50} досліджуваних НЧС становить $83,20 \pm 10,93$ мг/кг для самців та $99,92 \pm 11,71$ мг/кг для самок.

Встановлено значну відмінність у середньосмертельних дозах для мишей

Таблиця 2

Масові коефіцієнти внутрішніх органів мишей після внутрішньовенного введення наночастинок срібла

Група тварин (рівень дози)	Масовий коефіцієнт ($M \pm m$)						
	печінка	права нирка	ліва нирка	селезінка	легені	серце	головний мозок
<i>Самці, $n = 7$</i>							
№ 1 (50 мг/кг)	$5,23 \pm 0,42$	$0,65 \pm 0,05$	$0,66 \pm 0,09$	$0,78 \pm 0,31$	$0,73 \pm 0,08$	$0,47 \pm 0,07$	$1,67 \pm 0,11$
№ 2 (75 мг/кг)	$6,22 \pm 1,73$	$0,70 \pm 0,07$	$0,72 \pm 0,04$	$1,02 \pm 0,86$	$0,93 \pm 0,28$	$0,52 \pm 0,16$	$2,00 \pm 0,62$
№ 3 (100 мг/кг)	$6,37 \pm 0,93$	$0,88 \pm 0,11$	$0,84 \pm 0,09$	$1,18 \pm 0,41$	$1,00 \pm 0,11$	$0,57 \pm 0,05$	$2,20 \pm 0,24$
№ 4 (125 мг/кг)	–	–	–	–	–	–	–
№ 5 (150 мг/кг)	–	–	–	–	–	–	–
Контроль (фізіологічний розчин)	$4,75 \pm 0,43$	$0,60 \pm 0,06$	$0,61 \pm 0,05$	$0,74 \pm 0,27$	$0,74 \pm 0,09$	$0,46 \pm 0,05$	$1,92 \pm 0,15$
<i>Самки, $n = 7$</i>							
№ 1 (50 мг/кг)	$4,58 \pm 0,42$	$0,56 \pm 0,08$	$0,056 \pm 0,09$	$0,67 \pm 0,15$	$0,81 \pm 0,05$	$0,47 \pm 0,06$	$1,85 \pm 0,24$
№ 2 (75 мг/кг)	$5,00 \pm 0,74$	$0,52 \pm 0,05$	$0,49 \pm 0,05$	$0,72 \pm 0,19$	$0,85 \pm 0,07$	$0,66 \pm 0,21$	$1,95 \pm 0,14$
№ 3 (100 мг/кг)	$6,10 \pm 0,58$	$0,62 \pm 0,06$	$0,60 \pm 0,07$	$0,89 \pm 0,30$	$0,90 \pm 0,11$	$0,52 \pm 0,05$	$1,99 \pm 0,11$
№ 4 (125 мг/кг)	$5,69 \pm 1,36$	$0,66 \pm 0,18$	$0,64 \pm 0,14$	$0,92 \pm 0,62$	$1,14 \pm 0,24$	$0,61 \pm 0,18$	$2,15$
№ 5 (150 мг/кг)	–	–	–	–	–	–	–
Контроль (фізіологічний розчин)	$4,75 \pm 0,43$	$0,60 \pm 0,06$	$0,61 \pm 0,05$	$0,74 \pm 0,27$	$0,74 \pm 0,09$	$0,46 \pm 0,05$	$1,92 \pm 0,15$

Примітка. n – кількість тварин у групі.

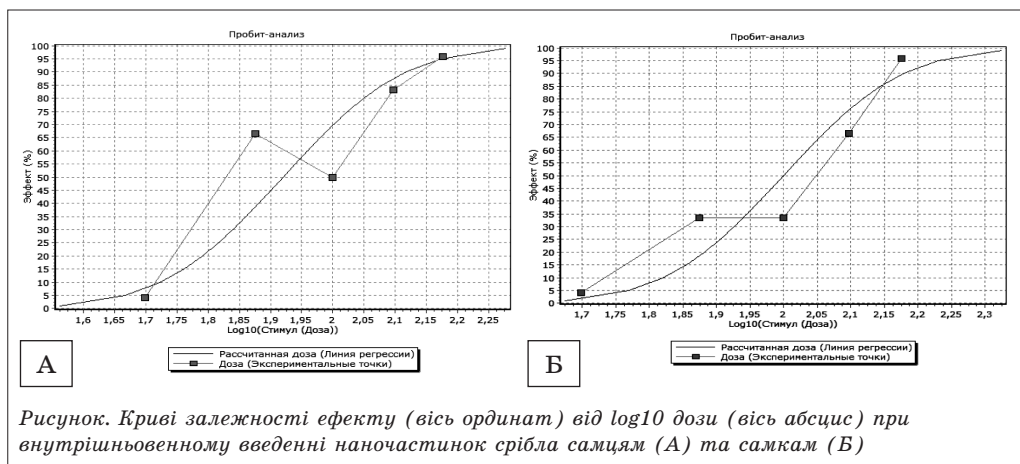
Таблиця 3

Загибель самців (А) та самок (Б) мишей після одноразового внутрішньовенного введення наночастинок срібла

Рівень дози, мг/кг (за металом)	Кількість загиб- лих тварин	Кількість загиблих тварин, %	Загальна кількість тварин у групі
<i>Самці, n = 36</i>			
50	0	0	6
75	4	66,7	6
100	3	50	6
125	5	83	6
150	6	100	6
Контроль (фізіологічний розчин)	0	0	6
<i>Самки, n = 36</i>			
50	0	0	6
75	2	33,3	6
100	2	33,3	6
125	4	66,7	6
150	6	100	6
Контроль (фізіологічний розчин)	0	0	6

при внутрішньоочеревинному та внутрішньовенному способах введення. LD_{50} виявилася приблизно в 2,5 та в 4,0 разу вищою для самців та самок відповідно при внутрішньовенному введенні порівняно з внутрішньоочеревинним [8]. Отримані результати вперше вказують на значні відмінності в токсичній дії металічних наночастинок при різних способах введення, що вважаються системними. За даними світової літератури подібні дослі-

дження проводили Z. Wang та ін. [13]. Автори відзначають порівняно швидшу екскрецію наночастинок при внутрішньовенному способі введення порівняно з внутрішньоочеревинним. Як вказують автори, наночастинок здатні проходити крізь різні гістогематичні бар'єри, зокрема, гематоплацентарний та гематотестикулярний, накопичуватись у паренхіматозних органах, зокрема, у печінці та селезінці. На нашу думку, суттєво вища



токсичність НЧС при внутрішньоочеревинному введенні може бути пояснена прямою подразнюючою дією на органи черевної порожнини і, як наслідок, розвитком запалення. До того ж частина введеної дози, ймовірно, реагує з компонентами перитонеальної рідини та випадає в осад, залишаючись у черевній порожнині, і тривалий час подразнює внутрішні органи. У той самий час при внутрішньовенному застосуванні слід очікувати рівномірнішого розподілу НЧС в організмі тварини, і, як наслідок, меншої токсичності. Симптоми після введення НЧС свідчать про пригнічення ними функцій дихального центру, а також розвиток серцево-судинної недостатності. Іншою важливою мішенню, ймовірно, є селезінка, збільшення якої реєструвалося в окремих особин з дослідних груп.

Загалом дослідження токсичності НЧС при системному способі введення в світовій літературі нечисленні. G. Ordzhonikidze та ін. [14] досліджували гостру токсичність НЧС, вкритих стабілізатором, при внутрішньовенному введенні мишам лінії BALB/c. Дослідниками встановлено не тільки надзвичайно низький рівень LD_{50} – $1,9 \cdot 10^{-6}$ мг/г ваги (1,9 мкг/кг), а й виражену токсичність відносно сперматозоїдів. Ці дані підтверджуються й пізнішою роботою Т. Х. Garcia та ін. [15]. Дослідники вказують, що при 12-денному введенні наночастинок срібла в дозі 1 мг/кг/добу самцям мишей лінії CD1 відзначені зміни в морфології сперматогенного епітелію, апоптоз сперматозоїдів, зміни розміру клітин

Лейдига. Вищевказані дані свідчать про наявність віддалених токсичних наслідків для репродуктивної функції в особин чоловічої статі за внутрішньовенного введення токсичних доз НЧС. У той самий час є дані щодо статевих відмінностей у накопиченні НЧС у внутрішніх органах самок щурів [17, 18] і мишей [16] порівняно з самцями, тим не менш, такі відмінності не призводили до видимих патологічних змін. Статеві особливості токсичного впливу НЧС залишаються актуальним і поки що маловивченим питанням.

Висновки

1. При внутрішньовенному введенні НЧС білим нелінійним мишам LD_{50} , розрахована за методом пробіт-аналізу Finney, для самців та самок становить $83,20 \pm 10,93$ мг/кг та $99,92 \pm 11,71$ мг/кг ($p = 0,05$) відповідно.

2. Виявлені відмінності в LD_{50} для мишей за різних шляхів введення, що вважаються системними. Менша токсичність НЧС при внутрішньовенному введенні порівняно з внутрішньоочеревинним пов'язана, ймовірно, з відмінностями в розподілі введених наночастинок в організмі.

3. Отримані дані свідчать про те, що для наночастинок срібла внутрішньовенний та внутрішньоочеревинний способи введення не є подібними як за показниками токсичності, так і за проявами інтоксикації, і не можуть бути взаємозамінними, як це має місце для традиційних біологічно активних речовин.

1. Bellantone M. Broad-spectrum bactericidal activity of Ag_2O -doped bioactive glass / Bellantone M., Williams H. D., Hench L. L. – Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2002. – V. 46, № 6. – P. 1940–1945.
2. Bhol K. C. Anti-inflammatory effect of topical nanocrystalline silver cream on allergic contact dermatitis in a guinea pig model / Bhol K. C., Alroy J., Schechter P. J. // Clin. Exp. Dermatol. – 2004. – V. 26. – № 3. – P. 282–287.
3. Bhol K. C. Effects of nanocrystalline silver (NPI 32101) in a rat model of ulcerative colitis / Bhol K. C., Schechter P. J. // Dig. Dis. Sci. – 2007. – V. 52. – P. 2732–2742.
4. Silver nanoparticles in therapeutics: development of an antimicrobial gel formulation for topical use / Jain J, Arora S, Rajwade J. M. [et al.] – Mol. Pharm. – 2009. – V. 6. – № 5. – P. 1388–1401.
5. Dunn K. The role of ActicoatTM with nanocrystalline silver in the management of burns / Dunn K., Edwards-Jones // Burns. – 2004. – V. 30. – P. 1–9.
6. Нанонаука, нанобіологія, нанофармація / Чекман І. С., Ульберг З. Р. Маланчук В. О. [та ін.]. – К.: Поліграф плюс, 2012. – 328 с.

7. Дослідження генотоксичності, мутагенної дії та впливу на штами-пробіонти шлунково-кишкового тракту людини і тварин колоїдних розчинів наночастинок срібла / Т. Г. Грузіна, С. М. Дибкова, А. О. Прискока [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 3. – С. 40–46.
8. Прискока А. О. Дослідження гострої токсичності наночастинок срібла за внутрішньоочеревинного введення / А. О. Прискока // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 1 (37). – С. 85–91.
9. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів / гол. ред. Стефанов О. В. – К. : Авіцена, 2001. – С. 59–90.
11. United States Environmental Protection Agency OPPTS 885.3200 Acute Injection Toxicity/ Pathogenicity // Microbial Pesticide Test Guidelines. – 1996. – P. 1–6.
12. Куценко С. А. Основы токсикологии / С. А. Куценко. – М. : Фолиант, 2004. – С. 93 – 95.
13. Wang Z. – Wang Z. Evaluation of the biological fate and the transport through biological barriers of nanosilver in mice / Z. Wang, G. Qu, L. Su // Current Pharmaceutical Design. – 2013. – V. 19, № 37. – P. 6691–6697.
14. Genotoxic effects of silver nanoparticles on mice *in vivo* / G. Ordzhonikidze, L. K. Ramaiyya, E. M. Egorova [et al.] – Acta naturae – 2009. – № 3. – P. 99–101.
15. Sub-acute intravenous administration of silver nanoparticles in male mice alters Leydig cell function and testosterone levels / T. X. Garcia, G. M. Costa, L. R. França, M. C. Hofmann // Reproductive toxicology. – 2014. – V. 45. – P. 59–70.
16. Acute toxic effects and gender-related biokinetics of silver nanoparticles following an intravenous injection in mice / Y. Xue, S. Zhang, Y. Huang [et al.] // J. Appl. Toxicol. – 2012. – V. 32, № 11. – P. 890–899.
17. Kim W. Y. Histological study of gender differences in accumulation of silver nanoparticles in kidneys of Fischer 344 rats / W. Y. Kim, J. Kim, J. D. Park // J. Toxicol. Environ. Health. A. – 2009. – V. 72, № 21–22. – P. 1279–1284.
18. Subchronic inhalation toxicity of silver nanoparticles / Sung J. H., Ji J. H., Park J. D. [et al.] // Toxicological sciences. – 2009. – V. 108. – № 2. – P. 452–461.

А. О. Прискока

Дослідження гострої токсичності наночастинок срібла при внутрішньовенному введенні

Наночастишки срібла активно досліджуються як ефективний протимікробний засіб для боротьби з антибіотикорезистентними штамми мікроорганізмів. Для впровадження нового потенційного лікарського засобу необхідним етапом є токсикологічні дослідження при різних шляхах введення.

Мета дослідження – вивчення гострої токсичності наночастинок срібла при внутрішньовенному способі введення.

Встановлено, що LD_{50} для білих нелінійних мишей становить $83,20 \pm 10,93$ мг/кг для самців і $99,92 \pm 11,71$ мг/кг для самок ($p = 0,05$). Клінічні прояви інтоксикації наночастинок срібла свідчать про пригнічення функції дихальної і серцево-судинної систем. Встановлено значні відмінності як в летальних дозах, так і в клінічних проявах при внутрішньовенному введенні досліджуваних наночастинок срібла порівняно з внутрішньоочеревинним.

Ключові слова: наночастишки срібла, гостра токсичність, внутрішньовенне введення

А. О. Прискока

Исследование острой токсичности наночастиц серебра при внутривенном введении

Наночастицы серебра активно изучаются как потенциальное противомикробное средство для лечения инфекций, вызванных мультирезистентными штаммами. Токсикология новых наночастиц серебра при системном способе введения остается плохо изученной.

Цель исследования – изучить острую токсичность наночастиц серебра при внутривенном способе введения. В предыдущих исследованиях приведены данные об острой токсичности наночастиц серебра при внутрибрюшинном введении. Было показано, что данные наночастицы не генотоксичны *in vitro* и *in vivo*, не мутагенны.

Данное исследование проведено на 72 белых нелинейных мышах (36 самцов и 36 самок). Мыши каждого пола были разделены на 5 экспериментальных и 1 контрольную группу. Для статистической оценки результатов был использован пробит-анализ по Finney и программа BioStat 2009 v 5.8.4. Мышей наблюдали в первые часы после введения и в течении 14 последующих дней дважды в день. Отмечались клинические признаки интоксикации. Все мыши (погибшие от интоксикации и выведенные в конце эксперимента) подлежали вскрытию. Выявлялись существенные патологические особенности. Регистрировали массу тела и внутренних органов.

Установлено, что наночастицы серебра при внутривенном введении мышам имеют LD_{50} $83,20 \pm 10,93$ мг/кг и $99,92 \pm 11,71$ мг/кг для самцов и самок соответственно. Были отмечены существенные

отличия в летальных дозах наночастиц при внутрибрюшинном и внутривенном введении. При внутривенном введении LD₅₀ была в 2,5 и 4,0 раза выше таковой при внутрибрюшинном введении для самок и самцов соответственно. Отличия в клинических признаках интоксикации также были отмечены. Эти факты свидетельствуют о том, что разные пути системного введения (внутривенное и внутрибрюшинное) не являются эквивалентными для наночастиц серебра, что необходимо учитывать при изучении новых наночастиц.

Ключевые слова: наночастицы серебра, острая токсичность, внутривенное введение

A. O. Pryskoka

Acute intravenous toxicity study of silver nanoparticles

Silver nanoparticles present high potential as an antimicrobial substance for treatment of infections caused by multiple-drug resistant strains. Toxicology of newly obtained silver nanoparticles when administered by systemic routes remains poorly studied. The aim of current work was to study acute intravenous toxicity of silver nanoparticles in terms of understanding peculiarities and differences of their systemic toxicity. In previous studies these nanoparticles were shown to be non-genotoxic *in vitro* and *in vivo*, non-mutagenic, and their acute toxicity under intraperitoneal injection to mice was revealed. In current study we used 72 non-linear white mice (36 males and 36 females). Mice of each gender was divided into 5 study groups according to level of dose and 1 control group. For statistical evaluation of results there were used Finney's probit-analysis and program BioStat 2009 v 5.8.4. Mice were observed in first hours after administration and for 14 next days twice a day, and clinical signs of acute intoxication were noticed. All mice (both died due to intoxication and sacrificed at the end of experiment) were subjects of autopsy and significant pathologic features were noticed. Weight measuring of animals and their internal organs were also provided.

It was established that silver nanoparticles LD₅₀ when administered intravenously to non-linear white mice were of 83,20 ± 10,93 mg/kg and 99,92 ± 11,71 mg/kg for males and females respectively. Significant difference for acute toxicity of silver nanoparticles under intraperitoneal and intravenous routes of administration have been revealed. The LD₅₀ for intravenous injections were by 2,5 and 4,0 times higher than under intraperitoneal administration for males and females, respectively. Different clinical signs of acute intoxication were also observed. These facts evidence that different systemic routes (intraperitoneal and intravenous) are not equivalent for silver nanoparticles which should be taken into account when studying newly obtained nanomaterials.

Key words: silver nanoparticles, acute toxicity, intravenous injection

Надійшла: 11.06.2014 р.

Контактна особа: Прискока Андрій Олегович, аспірант, кафедра фармакології та клінічної фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 34, просп. Перемоги, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 67 247 73 58.

Н. М. Серединська, М. А. Мохорт, Л. М. Киричок

Больова чутливість та адекватність її оцінки за тестом «tail-flick» у білих щурів

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

Ключові слова: больова чутливість, тест «tail-flick», білі щури

Чутливість, за якої пошкоджуюче подразнення викликає відчуття болю, називають больовою чутливістю [2–4, 6]. Формування больової чутливості (больового відчуття) – складний, багатоланковий процес, що охоплює ряд анатомічних і фізіологічних систем. Відчуття болю виникає в результаті системної діяльності нервової системи, а до процесу формування цього відчуття залучаються різні формації нервової системи, асамблеї рецепторів, нейронів, секреторних клітин, периферичних і центральних провідникових шляхів [3].

Ступінь реакцій організму у відповідь на біль, характер болю визначаються власне самим ураженням, а також індивідуальним відношенням до болю. Одне й те саме подразнення за одних умов може викликати дуже сильний біль, за інших обставин біль буде мало помітним [6]. Біль – відчуття суб'єктивне, що суттєво відрізняється в людей з різним емоційним статусом. Розрізняють чотири основних типи відношення людини до болю. Люди першого типу з високою загальною чутливістю до болю мають, зрозуміло, низький поріг больового відчуття і характеризуються низькою переносимістю болю. До другого типу належать люди, що мають також низький поріг больового відчуття, але переносимість болю у них значно вища. До третього типу належать люди з високим порогом больової чутливості, але з низькою переносимістю болю. Загальна чутливість до больового подразнення в людей четвертого типу невисока, тобто поріг больового відчуття високий, при цьому переносимість болю також досить висока. Суб'єктивне сприйняття інтенсивності та характеру болю значно утруд-

нює його оцінку, тобто кількісну реєстрацію інтенсивності больового відчуття, принаймні, у людини.

Прямих та точних показників больового відчуття в людини не існує; не створено досі приладів, що могли б об'єктивно оцінити характер болю в людини. Оцінюють ступінь больового синдрому за опосередкованими показниками: розширення зіниці ока, підвищення артеріального тиску крові, пришвидшення дихання, аритмічність дихання, посмикування м'язів тощо. Тобто, оцінюючи та вивчаючи біль у людини, керуються суб'єктивними відчуттями, користуючись, здебільшого, суб'єктивними методами, що базуються на власній оцінці людиною больового відчуття. Вельми важливим і складним є питання щодо об'єктивізації больового відчуття [3].

Поріг сприйняття болю в усіх тварин приблизно однаковий, але поріг переносимості навіть у представників одного виду суттєво різний і, вочевидь, залежить не лише від зовнішнього подразника, а й від індивідуальних особливостей тварини. Визначено, що поріг больової чутливості (ПБЧ) у тварини, як і в людини, залежить від стану імунного та емоційного статусу, ступеня стресової реакції, стану адаптаційних можливостей організму й може, певною мірою, характеризувати зазначені стани. Як свідчать дані сучасних досліджень, навіть загальну неспецифічну реактивність організму також можна визначати за показником ПБЧ [8]. Визначення ПБЧ, об'єктивізація оцінки больової чутливості у тварин є актуальною проблемою для експериментаторів та серйозним завданням численних медико-біологічних досліджень. Зокрема, актуальність таких досліджень очевидна для фармакологів за вивчення ефективності лікарських

засобів: аналгетиків, антидепресантів, спазмолітиків. Водночас, на відміну від людини, тварини «дозволяють» дати більш об'єктивну оцінку інтенсивності болю та його характеру. Вони не «мовчать», коли їх дратують, колють, подразнюють електричним струмом тощо, як це може робити людина, адже тварини не вміють утаємничувати реакцію на біль; вони їй не хочуть цього робити, бо в процесі еволюції вони звикли захищати себе від будь-якого негативного, такого, що спричинює біль, подразнення. Саме больова чутливість дозволила тваринному світові вижити на планеті в процесі еволюції. Вона присутня в усіх видів тварин, починаючи з амеби, яка «відсмикує» псевдоподію за подразнення. Це дає можливість реєстрації деяких показників, що об'єктивно відображають виникнення, розвиток та інтенсивність больового відчуття, спеціальними приладами. Тому у тварин застосовують об'єктивні методи оцінки больової реакції. Деякі з цих методів навчилися застосовувати й для оцінки ПБЧ у людини.

До об'єктивних методів належать, зокрема, механоалгометрія (вимір величини тиску на шкіру, що необхідний для виникнення болю), термоалгометрія (реєстрація температури, за якої виникає больове відчуття за дії на певну ділянку шкіри сфокусованого світлового, лазерного, інфрачервоного променя або гарячого предмета), хемоалгометрія (дозоване ін'єкційне введення хімічних речовин-алгогенів у різних концентраціях та об'ємах, що викликають больові відчуття), електроалгометрія (визначення сили струму або напруги, що викликає больову реакцію) та ін. Слід зважати на те, що перші поведінкові реакції тварин у відповідь на подразнення, захисні за своєю природою, а саме – флексія кінцівок, відсмикування хвоста, та є такими, що характеризують руховий компонент больового синдрому, тоді як за збільшення інтенсивності больового подразнення розвивається емоційна компонента, що є індивідуальною для кожної особини. Один з американських учених, який описав понад 200 методів вивчення больового відчуття, визнав,

що надати йому об'єктивну оцінку в людини майже неможливо, а у тварини – досить важко [3].

Численні дослідники вивчали больову чутливість, а також аналгезію в різних видів лабораторних тварин обох статей (мишей, щурів, мурчаків, кролів, кішок) [7, 12, 13–15].

Для встановлення ПБЧ у тварин застосовують різноманітні моделі та методи, які відрізняються за механізмом розвитку болю: тест «Гаряча пластина», хемогенна модель гострої запальної реакції («Формаліновий тест»), модель подразнення ноцицептивних рецепторів («Капсаїциновий тест»), модель больової реакції за хімічного подразнення очеревици (тест «Оцтовокісли корчі»), модель запалення інфекційним агентом (гіперчутливість, спровокована введенням повного ад'юванта Фрейнда), модель з використанням блокатора опіоїдних рецепторів налоксона [1].

У численних експериментальних клініках як больовий подразник дуже часто застосовують електричний струм. Нерідко експериментатори використовують метод здавлювання хвоста або вуха тварини. Свого часу для визначення ПБЧ був запропонований метод провокації агресії – здатність тварини (мави) вступати в бійку за больового подразнення.

Показником виникнення болю (власне, оцінкою ПБЧ) можуть бути різноманітні реакції тварин: «відсмикування» хвоста, поворот або піднімання голови, корчі, намагання вкисити тощо. Підмічено, що, здебільшого, за виникнення болю мурчак різко підіймає голову догори, криль відвертає голову в протилежну сторону, а кішка нявчить або кричить. На думку американського фізіолога Ліма, найдоказовішою ознакою болю в тварин є крик.

Досить простими і найрозповсюдженішими методами визначення ПБЧ є ті, що базуються на подразненні (будь-яким подразником) певної точки на шкірі. Поступово підвищуючи силу подразнення, визначають ПБЧ. Вважають, що ПБЧ приблизно однаковий у тварини і людини [3]. Водночас, показники ПБЧ за критеріального визначен-

ня, наприклад, напруги струму за універсальним методом у тварин різних видів дещо відрізняються. Наприклад, встановлені межі варіацій значення ПБЧ для кролів – (6–69) В, для мурчаків – (11–25) В, для білих щурів – (18–26) В, для золотистих хом'яків – (17–28) В, для білих мишей – (10–18) В [9]. Звертає увагу широкий варіаційний ряд значень ПБЧ у тварин, причому його величини від найнижчої до найвищої відрізняються в деяких видів більше, ніж удвічі, у інших видів – на порядок.

Велику розбіжність вихідних значень ПБЧ у щурів фіксували дослідники [10], застосовуючи електрофізіологічний метод подразнення, що також виключає можливість впливу суб'єктивізму оцінки експериментатором отриманих даних, зазначаючи, що діапазон значень ПБЧ становив (1,88–3,75) у. о., тобто найвище значення ПБЧ було вдвічі більшим від найнижчого.

Численні дослідники застосовують в експерименті метод Харді, Вольфа та Гуделла, спрямовуючи на хвіст чи ніс тварини сфокусований тепловий промінь (метод термоалгометрії). За умов виникнення болю тварина відсмикує хвіст або відвертає морду. Однак вважають, що вплив променя на хвіст дає більш об'єктивні результати через те, що за теплового навантаження на ніс тварина відвертатиме морду ще до виникнення болювого відчуття.

По-суті, визначення та аналіз величини ПБЧ за тестом «tail-flick», що застосовується нині для оцінки аналгетичної ефективності офіційних та потенційних лікарських засобів, є різновидом методу термоалгометрії та характеризується поведінковою реакцією відведення (відсмикування) хвоста за дії інфрачервоного випромінювання. Цей метод є відносно гуманним до тварин і таким, що дозволяє зафіксувати величину болювої чутливості на пороговому рівні.

Досить великий досвід застосування об'єктивного, як зазначалося вище, методу оцінки болювої чутливості термоалгометрії та визначення ПБЧ у значної кількості білих щурів за тестом «tail-flick», дозволяє стверджувати, що

аналіз результатів щодо дослідження аналгетичної активності ксенобіотиків значною мірою залежить від болювої чутливості (вихідної) кожної особини. Межі ПБЧ, визначені за вказаним тестом, досить широкі, і найнижчі значення можуть відрізнятися від найвищих у десятки разів. Нехтування цим фактом може призвести до неправдивої інтерпретації даних щодо ефективності/неефективності досліджуваних зразків.

Мета дослідження – оптимізація оцінки ПБЧ у білих щурів за тестом «tail-flick».

Матеріали та методи. У інтактних, здорових, статевозрілих білих щурів обох статей ($n = 290$; 150 самиць і 140 самців), ретельно підібраних за масою тіла (130–150 г), за уніфікації умов утримання, стандартизації харчування та вільного доступу до води, дотримання правил вимірювання згідно зі стандартними операційними процедурами (СОПами) визначали ПБЧ за тестом «tail-flick», реєструючи латентний період реакції відсмикування хвоста (с) у відповідь на термічне ноцицептивне подразнення (з інтенсивністю інфрачервоного променя 25 мВт/см^2), що продукувалося приладом «7360 Tail-Flick Unit» (Ugo Basile, Італія).

Щурів утримували в пластикових клітках по 6 одностатевих особин у кожній; адаптація тварин проходила в умовах, що відповідали науково-практичним рекомендаціям [11]. Особливу увагу при дослідженні болювої чутливості приділяли дотриманню правил гуманного відношення до тварин відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001 р.), що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) та ухвалені Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.).

Статистичну обробку результатів проводили з використанням t -критерію Стьюдента. Дані представлені як середнє арифметичне значення та похибка середнього арифметичного ($M \pm m$).

Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично достовірною за значення $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. За триразового виміру ПБЧ у тесті «tail-flick» оцінювали поведінкову реакцію білих щурів – відсмикування хвоста за дії інфрачервоного променя, сфокусованого на основу хвоста. Визначали середньостатистичні значення ПБЧ для кожної з 290 тварин. Середнє статистичне значення ПБЧ для білих щурів становило $11,57 \pm 1,40$ с ($n = 290$). Нашу увагу привернула велика розбіжність отриманих вихідних значень больової чутливості здорових щурів, що коливалися в межах від 1,0 до 22,0–23,0 с (табл. 1). Такі суттєві розбіжності в значеннях показника ПБЧ у тварин значно ускладнюють і, врешті-решт, унеможливають отримання статистично достовірних даних щодо, наприклад, вивчення анальгезуючої активності лікарських засобів, навіть, за умов формування груп зі значною кількістю тварин (понад 30). Зазначені результати зумовили необхідність оптимізації рандомізації тварин за показником ПБЧ. В основу рандомізації було покладено значення латентного періоду відсмикування хвоста у відповідь на термічне подразнення з умовно рівномірним кроком: 1,0–3,9; 4,0–6,9; 7,0–9,9; 10,0–12,9; 13,0–15,9; 16,0–18,9; 19,0–22,9, що дозволило розподілити тварин за відповідними рангами (1–7).

Визначено, що найбільшу кількість тварин (61 %) складають щури 2 та 3 рангів, ПБЧ у яких лежить у межах

4,0–9,9 с, причому кількість тварин у кожному з цих рангів майже однакова. Фактично, десята частина тварин (щури 1 рангу – 11,4 %) має високу больову чутливість, що характеризується ПБЧ 0,1–3,9 с. До тварин 4 рангу з ПБЧ 10,0–12,9 с належить 16,9 % щурів. Найменша кількість тварин (12,9 %) належить до 5 та 6 рангів, що мають найнижчий ПБЧ (13,0–22,9 с). Водночас, майже четверту частину від усіх дослідних тварин (24 %) складають щури 4 та 5 рангів, і ПБЧ у тварин зазначених рангів відрізняється несуттєво. Не було зафіксовано значимої різниці в кількості самиць та самців у відповідних рангах. Суттєво не змінювалася кількість тварин у кожному із зазначених рангів залежно від пори року та часу доби.

Середньостатистичне значення ПБЧ для тварин 2 та 3 рангів становило $7,04 \pm 0,24$ с, що на 39 % відрізняється від значення ПБЧ, встановленого для усіх тварин ($11,57 \pm 1,40$ с; $n = 290$) без розподілення їх за рангами. Тобто, больова чутливість тварин 2 та 3 рангів значно вища (на 39 %) і саме цих тварин – переважна більшість у популяції (61 %). Очевидно, що нехтувати цим фактом невиправдано при дослідженні знеболювальної дії ксенобіотиків.

Середньостатистичне значення ПБЧ для тварин 4 та 5 рангів становило $12,57 \pm 0,20$ с. Це значення несуттєво відрізняється від такого, що підраховано загалом для щурів усіх рангів.

Таблиця

Розподіл білих щурів за ступенем больової чутливості та визначення порога больової чутливості в тесті «tail-flick»

Показник	Межі латентного періоду відсмикування хвоста, с						
	1,0–3,9	4,0–6,9	7,0–9,9	10,0–12,9	13,0–15,9	16,0–18,9	19,0–22,9
Ранг	1	2	3	4	5	6	7
n*	33/290	85/290	93/290	49/290	21/290	6/130	3/290
Поріг больової чутливості ($M \pm m$)	$2,91 \pm 0,29$	$5,99 \pm 0,24$	$8,09 \pm 0,24$	$11,06 \pm 0,20$	$14,08 \pm 0,20$	$17,02 \pm 0,20$	$21,08 \pm 0,06$
% тварин з відповідним порогом больової чутливості	11,4	29,0	32,0	16,9	7,3	4,6	1,0

Примітка. *Відношення кількості тварин відповідного рангу до загальної кількості тварин.

Найнижчою больовою чутливістю відрізняються тварини 6 та 7 рангів, і таких щурів у популяції незначна кількість (5,6 %). На нашу думку, тварин з найнижчою больовою чутливістю (ПБЧ $\geq 16,0$) не варто залучати до дослідів з вивчення, наприклад, протибольової активності лікарських засобів.

Вивчення анальгезуючої активності ксенобіотиків доцільно проводити на тваринах (білих щурах) з вихідною больовою чутливістю, що властива найбільшій кількості тварин, і вихідне значення ПБЧ у яких, визначене за тестом «tail-flick», знаходиться в межах 4,0–9,9 с. Допустимо для вивчення протибольової активності ксенобіотиків формування груп тварин з ПБЧ 10,0–15,9 с. Однак проведення порівняльного аналізу щодо встановлення переважаючої протибольової дії одного з двох (або більше) ксенобіотиків, порівнюючи ПБЧ у тварин 2–3 (їх 61 %) і 4–5 (їх 24 %) рангів слід вважати некоректним, не лише і не стільки через різну кількість цих тварин у популяції, скільки через суттєво різну вихідну больову чутливість: ПБЧ $7,04 \pm 0,24$ с (щури 2–3 рангів та ПБЧ $12,57 \pm 0,20$ с (щури 4–5 рангів).

Водночас, при проведенні, наприклад, скринінгових досліджень нових потенційних знеболювальних засобів найефективнішою є та сполука, що проявляє анальгезуючу активність у тварин 1 рангу, больова чутливість яких найвища. Проведення зазначених досліджень (скринінгових) на тваринах з ПБЧ, що перевищує 12,9 с, визначеним за тестом «tail-flick», взагалі, на нашу думку, недоцільно. Оцінка протибольової активності генеричних препаратів може проводитися на тваринах 1–4 рангів, але різні групи (контрольна та дослідні) необ-

хідно формувати з тварин одного (або двох сусідніх, за виключенням 1) рангів. Залучення до однієї групи тварин різних рангів (наприклад, 2 і 6, або 3 і 5, або 1 і 7 тощо) може призвести до отримання неістинних результатів щодо наявності та ступеня протибольової ефективності в того чи іншого ксенобіотика.

Результати проведених досліджень обґрунтовують передбачення того, що ступінь знеболювальної активності одного й того самого анальгетика може бути різним у тварин з різним вихідним значенням ПБЧ. Однак дане припущення потребує експериментального підтвердження.

Висновки

1. Для об'єктивізації даних щодо больової чутливості в тварин перед початком дослідження знеболювальної дії ксенобіотиків, у тому числі лікарських засобів за тестом «tail-flick», доцільно провести рандомізацію тварин за рангами з рівним кроком, урахувуючи рівень вихідного значення ПБЧ.

2. З метою отримання достовірних результатів слід брати до уваги вихідну больову чутливість кожної тварини та формувати групи з достатньою кількістю тварин, больова чутливість яких суттєво не відрізняється, тобто з ПБЧ (визначеним за тестом «tail-flick») у межах одного або двох сусідніх рангів.

3. З метою отримання достовірних результатів щодо знеболювальної дії потенційних і генеричних лікарських засобів, а також інших ксенобіотиків за тестом «tail-flick», дослідження доцільно проводити в тварин (білих щурів) з вихідним рівнем ПБЧ, що знаходиться в межах 4,0–9,9 с (середньостатистичне значення $7,04 \pm 0,24$ с) і є характерним для найбільшої кількості тварин (61 %) у популяції.

1. *In vivo* модели для изучения анальгетической активности / Бондаренко Д. А., Дьяченко И. А., Скобцов Д. И., Мурашев А. Н. // Биомедицина. – 2011. – № 2. – С. 84–94.
2. Ноцицепция и антиноцицепция: теория и практика / А. С. Владыка, А. А. Шандра, Р. Е. Хома, В. М. Воронцов. – Винница : ФОП «Каштелянов А. И.», 2012. – 176 с.
3. Кассиль Г. Н. Наука о боли / Г. Н. Кассиль // Академия наук СССР. Серия «Проблемы науки и технического прогресса». – [2-е доп. изд.]. – М. : Изд-во «Наука», 1975. – 400 с.
4. Коренюк И. И. Нейрохимические механизмы изменения показателей болевой чувствительности крыс на фоне интоксикации сульфатом ртути / Коренюк И. И., Шилина В. В., Хусаинов Д. Р. // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 12. – С. 28–31.

5. Корнюшенков Е. А. Современный взгляд на теорию боли. Методы лечения боли / Корнюшенков Е. А. // Курс «Анестезиология, реаниматология и интенсивная терапия мелких домашних и экзотических животных», 18 октября 2012 – 27 июня 2013 г. / Анестезиологическое ветеринарное общество «Институт развития ветеринарной интенсивной терапии, анестезиологии и реаниматологии – ВИТАР»
6. Кукушкин М. Л. Нейрофизиология боли и обезболивания / Кукушкин М. Л. // Боль. Суставы. Позвоночник. – 2011. – № 2 (2).
7. Михеев В. В. Нейрофармакологический анализ межполушарной асимметрии мозга в регуляции поведения, болевой чувствительности и анальгезии у мышей разных генетических линий / Михеев В. В., Шабанов П. Д. // Психофармакол. и биол. наркол. – 2007. – Т. 7, № 3–4. – С. 2131–2140.
8. Мулик А. Б. Универсальный метод оценки уровня общей неспецифической реактивности организма человека и традиционных видов лабораторных животных / Мулик А. Б. // Вестник Волгоградского гос. ун-та. Серия 11: Естественные науки. – 2012. – Вып. № 2. – С. 11–15.
9. Мулик А. Б. Универсальный метод определения порога болевой чувствительности у традиционных видов лабораторных животных / Мулик А. Б., Шатыр Ю. А. // Росс. ж-л боли. – 2012. – № 2. – С. 7–10.
10. Нефьодов О. О. Спазмолітичні засоби проявляють властивості центральних анальгетиків у експерименті / Нефьодов О. О., Мамчур В. Й. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2008. – № 4 (5). – С. 43–48.
11. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Кожемякін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А. [та ін.]. – К.: ВД «Авіцена», 2002. – 156 с.
12. Шекунова Е. В. Влияние унилатеральной инактивации больших полушарий головного мозга на уровень висцеральной болевой чувствительности мышей линии BALB/c / Шекунова Е. В., Михеев В. В., Кубынин А. Н. // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 1999. – Т. 85. – № 11. – С. 1374–1377.
13. Frischknecht H. R. Opioids and behavior: genetic aspects / Frischknecht H. R., Siegfried B., Waser P. G. // Experientia. – 1988. – V. 44, № 6. – P. 473–481.
14. Effects of repeated as compared to single aggressive confrontation on nociception and defense behavior in C57Bl/6 and DBA/2 mice / Külling P., Frischknecht H.-R., Pasi A. [et al.] // Physiol. and Behav. – 1987. – V. 39, № 5. – P. 599–605.
15. Sadowski B. Genetic determination of opioid involvement in the mechanism of pain inhibition in mice / Sadowski B. // Acta neurobiol. exp. – 1992. – V. 53, № 3. – P. 160.

Н. М. Серединська, М. А. Мохорт, Л. М. Киричок

Больова чутливість та адекватність її оцінки за тестом «tail-flick» у білих щурів

Великий досвід застосування об'єктивного методу оцінки больової чутливості, термоалгометрії та визначення порога больової чутливості за тестом «tail-flick» у тварин дозволяють стверджувати, що аналіз результатів дослідження анальгетичної активності ксенобіотиків значною мірою залежить від больової чутливості (вихідної) кожної особини. Межі порога больової чутливості, визначені за вказаним тестом, досить широкі, і найнижчі значення відрізняються від найвищих у десятки разів: розбіжність вихідних значень больової чутливості здорових щурів коливалася від 1,0 до 22,0–23,0 с. Нехтування цим фактом може призвести до неправдивої інтерпретації даних щодо анальгезуючої дії досліджуваних зразків.

З метою оптимізації оцінки порога больової чутливості за тестом «tail-flick» встановлено поріг больової чутливості в значній кількості інтактних білих щурів (290 особин), визначені ранги (межі) порога больової чутливості та кількість тварин, що належить до певного рангу. Зроблено рекомендації щодо необхідності врахування вихідного значення порога больової чутливості (рангу) за формування дослідних груп, а також рандомізації тварин за цим показником за умов застосування тесту «tail-flick» при вивченні протiboldової активності ксенобіотиків.

Вивчення анальгезуючої активності ксенобіотиків доцільно проводити на тваринах (білих щурах) з вихідною больовою чутливістю, що властива найбільшій кількості тварин, і вихідне значення порога больової чутливості у яких, визначене за тестом «tail-flick», знаходиться у межах 4,0–9,9 с.

Ключові слова: больова чутливість, тест «tail-flick», білі щури

Н. Н. Серединская, Н. А. Мохорт, Л. М. Киричок

Болевая чувствительность и адекватность ее оценки по тесту «tail-flick» у белых крыс

Большой опыт применения объективного метода оценки болевой чувствительности, термоалгометрии и определение порога болевой чувствительности по тесту «tail-flick» у животных позволяют утверждать, что анализ результатов по исследованию анальгетической активности ксенобиотиков в значительной степени зависит от болевой чувствительности (исходной) каждого животного. Границы порога болевой чувствительности, определенные по указанному тесту, достаточно широкие, и самые низкие значения отличаются от наиболее высоких в десятки раз: различия исходных значе-

ний болевой чувствительности у здоровых крыс колеблются от 1,0 до 22,0–23,0 с. Пренебрежение этим фактом может привести к неправдивой интерпретации данных об анальгезирующем действии исследуемых образцов.

С целью оптимизации оценки порога болевой чувствительности по тесту «tail-flick» установлен порог болевой чувствительности у значительного числа белых крыс (290 особей), определены ранги (границы) порога болевой чувствительности и количество животных, которые имеют порог болевой чувствительности, соответствующий определенному рангу. Даны рекомендации о необходимости учитывать исходное значение порога болевой чувствительности (ранг) при формировании опытных групп, а также рандомизации животных по этому показателю в условиях применения теста «tail-flick» при изучении противовоспалительной активности ксенобиотиков.

Изучение анальгезирующей активности ксенобиотиков целесообразно проводить на животных (белых крысах) с исходной болевой чувствительностью, которая свойственна наибольшему количеству животных, и исходное значение порога болевой чувствительности у которых, определенное по тесту «tail-flick», соответствует 4,0–9,9 с.

Ключевые слова: болевая чувствительность, тест «tail-flick», белые крысы

N. N. Seredynskaya, N. A. Mokhort, L. M. Kirychok

Pain sensitivity and its adequate assessment in albino rats by the «tail-flick» test

A great experience with an objective method for pain sensitivity in the animals by termoalgotometry and pain threshold evaluation in test «tail-flick» allows us to assert that the analysis of the study results as to the xenobiotics analgesic activity significantly depends on the pain sensitivity (initial) of each animal. The range of the pain threshold determined by this test wide enough and lowest differ from the highest in ten times: the initial values of pain sensitivity in healthy rats range from 0,1 to 22,0–23,0 s. Ignoring this fact can lead to false data interpretation as to the analgesic effect of the studied samples.

To optimize the pain threshold assessment in the «tail-flick» test we determined the pain threshold and its range) in large number of intact albino rats (290 individuals) and the number of the animals that have the pain threshold corresponding to the certain range was also determined. The necessity to consider the initial value of the pain threshold (level) in forming the experimental groups and to approach rationally to randomization of the animals according to the pain threshold indices in the «tail-flick» test for xenobiotics analgesic activity was recommended in the article.

It is advantageously to carry out the study of the xenobiotics analgesic activity on animals (albino rats) with the initial pain sensitivity, which is appropriate to the greatest number of animals with pain threshold original value determined by the test «tail-flick» corresponding to 4,0–9,9 sec.

Key words: pain threshold, «tail-flick» test, albino rats

Надійшла: 04.06.2014 р.

Контактна особа: Серединська Наталія Миколаївна, доктор медичних наук, відділ фармакології протизапальних та анальгезуючих засобів, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потье, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 0 44 456 82 90.

В. Ю. Слесарчук

Дослідження функціонального стану нирок щурів за умов застосування ліофільного порошку м'якоті кавуна в нормі та за гострої ниркової недостатності

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Ключові слова: ліофільний порошок м'якоті кавуна, гостра ниркова недостатність, швидкість клубочкової фільтрації

Пошкодження нирок відносять до тяжких захворювань. Приблизно 50 % випадків гострої ниркової недостатності (ГНН) закінчуються летальністю. Існує велика ймовірність переходу гострого стану в хронічний при відсутності своєчасної та ефективної терапії [1]. Зважаючи на це, своєчасне виявлення та лікування хворих на ГНН є надзвичайно актуальним. Багато дослідників для підвищення ефективності лікування захворювань нирок рекомендують використання фітотерапії [2]. Фітотерапія має безліч переваг, пов'язаних з низькою токсичністю фітопрепаратів, здатністю легко включатися в біохімічні процеси організму, можливістю тривалого застосування та полівалентністю дії [3, 4]. У цьому аспекті увагу науковців дедалі привертає кавун звичайний, що є джерелом багатьох БАР (флавоноїди, каротиноїди, амінокислоти, вітаміни), які виявляють нефропротекторну дію. М'якоть кавуна здавна використовують при циститах, нефритах, піелонефритах, сечокам'яній хворобі (при випадінні в сечі солей кальцію, уратів, оксалатів та сечової кислоти). Підвищення лужності сечі під дією речовин, що містяться в кавуні, сприяє розчиненню солей, а діуретична дія – виведенню солей із організму [5]. Обмежене використання кавуна офіційною медициною спричинене складністю отримання стандартизованих субстанцій на його основі. Технологіями Тернопільського держав-

ного медичного університету імені І. Я. Горбачевського була розроблена та апробована технологія отримання ліофільного порошку м'якоті кавуна (ЛПК) методом сублімації, яка дозволяє зберегти високий вміст стабільних біологічно активних речовин [6, 7].

Мета дослідження – вивчення впливу ЛПК та препаратів порівняння (Канефрон Н, Гіпотіазид) на показники функціонального стану нирок щурів у нормі, а також на тлі експериментальної етиленгліколевої гострої ниркової недостатності.

Матеріали та методи. Досліди проведено на 54 білих щурах лінії Wistar масою $258,3 \pm 7,2$ г, яких утримували в умовах віварію на стандартному режимі харчування без обмежень у споживанні води [8, 9]. Експерименти проводили в 2 етапи: на першому – досліджували вплив ЛПК на показники видільної функції в здорових тварин, другий полягав у визначенні захисної дії ЛПК на моделі токсичного ураження нирок. На першому етапі тваринам внутрішньошлунково вводили ЛПК у дозі 150 мг/кг, контрольним тваринам в аналогічному об'ємі вводили розчинник. Для порівняння було обрано синтетичний діуретичний засіб Гіпотіазид (25 мг/кг, Борщаговський ХФЗ, Україна) та рослинний – Канефрон Н (27 мг/кг, Біоноріка, Германия). Діурез індукували водним навантаженням (3 % від маси тіла) і збирали добову сечу, при цьому в перші 4 год об'єм видільної тваринами сечі вимірювали кожні 30 хв [8]. У добовій сечі та плазмі крові дослідних щурів визначали концентрацію креатиніну, сечовини, сечової кислоти за допомогою стандартних тест-наборів НПВ «Філісіт-Діагностика»

(Україна). Показники функціонального стану нирок розраховували за загальноприйнятими формулами [10].

На другому етапі для дослідження захисної дії ЛПК на моделі етиленгліколевої інтоксикації щури були розподілені на 4 групи: 1 – контрольні тварини (n = 6); 2 – модельна патологія (МП) (ГНН без лікування) (n = 8); 3 – ГНН + лікування ЛПК у дозі 150 мг/кг (n = 8); 4 – ГНН + лікування препаратом «Канефрон Н» у дозі 27 мг/кг (n = 8). Досліджувані препарати вводили за 1 год до введення етиленгліколю та впродовж 7 діб розвитку патології. Етиленгліколеву інтоксикацію викликали підшкірним введенням етиленгліколю кваліфікації «х. ч.», доза для щурів становила 6 мл/кг [11]. На 7 добу розвитку ГНН тваринам проводили водне навантаження та впродовж 2 год збирали сечу, потім виводили з експерименту. У плазмі крові та сечі дослідних тварин визначали вміст креатиніну, загального білка.

Результати статистичної обробки даних представляли у вигляді середньої $\pm$ стандартна помилка середньої ($M \pm m$); статистичну значущість міжгрупових відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Зміни вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Одноразове введення щурам досліджуваних речовин (рис. 1) впливає на динаміку сечовиділення впродовж перших 4 год експерименту. Посилення сечовиділення в усіх дослідних групах спостерігали на 60 хв експерименту. Під впливом ЛПК об'єм сечовиділення вірогідно збільшувався на 58,8 %, на тлі введен-

ня Канефрону Н – на 17,7 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем, Гіпотіазид достовірних змін відносно контролю не викликав. Крива сечовиділення змінювалася після 1 год досліді, під впливом рослинних засобів діурез знижувався, лише Гіпотіазид зберігав свою ефективність до 2 год досліді. На 4 год експерименту в усіх дослідних групах діурез наближався до значень контролю.

Об'єм добової сечі на тлі введення ЛПК достовірно зростав на 27,8 %, Гіпотіазиду – на 25,0 %, Канефрону Н – на 47,2 % ($p < 0,05$) відносно контролю.

Уведення ЛПК (табл. 1) впливає на екскреторну здатність нирок щурів. ЛПК посилює швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) на 33,3 % ($p < 0,05$), достовірно підвищує екскрецію сечовини на 49,4 % та сечової кислоти в 5,4 рази. Виведення продуктів азотистого обміну може бути пов'язано з участю біологічно активних речовин ЛПК в процесах біохімічних перетворень, зокрема, у циклі Кребса та циклі сечовини. Аргінін, наявний у хімічно-

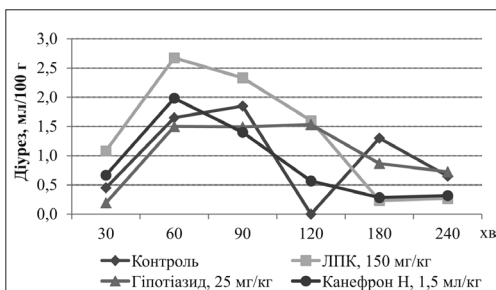


Рис. 1. Криві сечовиділення під впливом одноразового введення ліофільного порошку м'якоти кавуна (150 мг/кг), Канефрону Н (1,5 мл/кг) та Гіпотіазиду (25 мг/кг) на тлі водного навантаження

Таблиця 1

Екскреторна здатність нирок щурів на тлі одноразового введення ліофільного порошку м'якоти кавуна, Гіпотіазиду та Канефрону Н

Показник	Контроль	ЛПК, 150 мг/кг	Гіпотіазид, 25 мг/кг	Канефрон Н, 1,5 мл/кг
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/100 г · хв	0,27 $\pm$ 0,02	0,36 $\pm$ 0,01*	0,37 $\pm$ 0,03*	0,35 $\pm$ 0,03*
Екскреція сечовини, ммоль/100 г · доба	1,66 $\pm$ 0,18	2,48 $\pm$ 0,27*	1,54 $\pm$ 0,22	1,74 $\pm$ 0,19
Екскреція сечової кислоти, мкмоль/100 г · доба	48,3 $\pm$ 4,0	261,7 $\pm$ 28,2*	42,3 $\pm$ 9,5	202,2 $\pm$ 19,4*

Примітка. *Достовірні зміни відносно контрольної групи тварин.

му складі ЛПК, є попередником синтезу оксиду азоту, розширює судини нирок, посилює ШКФ, тим самим посилює виведення продуктів азотистого обміну із організму щурів.

На тлі введення Гіпотіазиду ШКФ посилюється на 37,0 % ($p < 0,05$), екскреція сечовини та сечової кислоти достовірно не відрізняється від контролю.

Уведення щурам Канефрону Н достовірно підвищує ШКФ на 29,6 %. Екскреція сечовини під впливом препарату достовірно не відрізняється від контролю. У 4,2 разу вірогідно підвищується екскреція сечової кислоти.

Виходячи з отриманих експериментальних даних, для подальших досліджень впливу препаратів на функціонування нирок на тлі ГНН нами обрано один препарат порівняння «Канефрон Н».

Підшкірне введення етиленгліколю викликає характерні для нефротоксичної форми ГНН зміни (табл. 2): на 7 добу виявлено зниження діурезу, зростання концентрації креатиніну крові на 137,6 % ($p < 0,05$) внаслідок різкого падіння ШКФ на 74,4 % ($p < 0,05$). При

цьому спостерігали достовірне зниження екскреції креатиніну на 32,0 % у групі модельної патології. Разом з цим, виявили вірогідне збільшення концентрації білка в сечі та екскреції білка в 4,1 та 4,3 разу відповідно (рис. 2, 3).

Уведення ЛПК упродовж 7 днів у лабораторних тварин з етиленгліковою ГНН сприяло збільшенню діурезу на 16,7 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем та на 23,5 % ($p < 0,05$) – з групою модельної патології. Такі самі показники продемонстрував і препарат порівняння «Канефрон Н» (табл. 2). Під впливом ЛПК ШКФ збільшилася відносно показників нелікованих щурів на 40,0 % ($p < 0,05$) та на 13,8 % знизився рівень креатиніну крові. На тлі лікування Канефроном Н достовірно значущих змін рівня ШКФ та креатиніну крові відносно показників групи модельної патології не спостерігали. Проте й ЛПК, і Канефрон Н достовірно посилювали екскрецію креатиніну.

Оцінюючи результати дослідження, можна зробити висновок про те, що ЛПК у дозі 150 мг/кг та Канефрон Н в озі 27 мг/кг при 7-денному введенні

Таблиця 2

Показники діурезу, швидкості клубочкової фільтрації, екскреції та рівня креатиніну в плазмі крові щурів з етиленгліковою нирковою недостатністю та за умов 7-добового введення ліофільного порошку м'якоті кавуна та Канефрону Н

Група	Показник			
	Діурез, мл/100 г·2 год	Швидкість клубочкової фільтрації, мл/100 г · хв	Креатинін плазми, мкмоль/л	Екскреція креатиніну, мкмоль/ на 100 г · 2 год
Контроль (n = 6)	1,80 ± 0,01	0,390 ± 0,013	60,9 ± 1,5	2,50 ± 0,13
Модельна патологія (n = 8)	1,70 ± 0,03	0,100 ± 0,005*	144,7 ± 2,8*	1,7 ± 0,07*
% змін до контролю	– 5,6 %	– 74,4 %	+ 137,6 %	– 32,0 %
Модельна патологія + ліофільний порошок м'якоті кавуна (n = 8)	2,10 ± 0,09#	0,140 ± 0,004#	124,7 ± 3,7#	2,10 ± 0,07#
% змін до модельної патології	+ 23,5%	+ 40,0 %	– 13,8 %	+ 23,5 %
Модельна патологія + Канефрон Н (n = 8)	2,10 ± 0,05#	0,110 ± 0,002	151,9 ± 3,5	2,00 ± 0,07#
% змін до модельної патології	+ 23,5 %	+ 10,0 %	+ 5,0 %	+ 17,6 %

Примітка. *Достовірні зміни відносно контролю; #достовірні зміни відносно модельної патології.

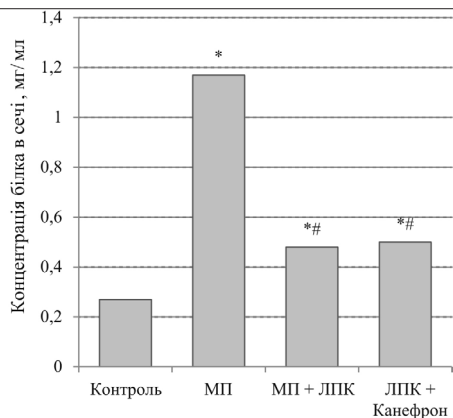


Рис. 2. Концентрація білка в сечі під впливом 7-добового введення ліофільного порошку м'якоті кавуна та Канефрону Н у щурів з етиленгліколевою нирковою недостатністю

Примітка. Тут і на рис. 3: МП – модельна патологія; ЛПК – ліофільний порошок кавуна

*достовірні зміни відносно контролю,

**достовірні зміни відносно модельної патології.

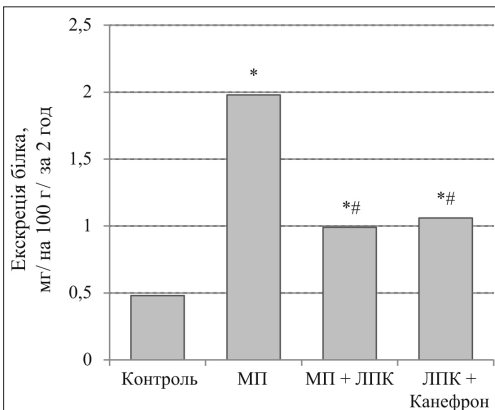


Рис. 3. Показники екскреції білка під впливом 7-добового введення ліофільного порошку м'якоті кавуна та Канефрону Н у щурів з етиленгліколевою нирковою недостатністю

щурів з ГНН проявляють нефропротекторні властивості. Про це свідчить їхня спроможність відновлювати діурез, попереджувати втрату білка з сечею, посилювати швидкість клубочкової фільтрації, що закономірно призводить до зниження концентрації креатиніну в плазмі крові, тобто, зменшення ретенційної азотемії. За низкою показників препарат ЛПК діє більш ефективно, ніж препарат порівняння Канефрон Н.

Висновки

1. Одноразове введення щурам ліофільного порошку м'якоті кавуна в дозі 150 мг/кг за умов водного навантаження стимулює сечовиділення, посилює швидкість клубочкової фільтрації та збільшує екскреторну здатність нирок тварин.

2. ЛПК у дозі 150 мг/кг при 7-денному введенні щурам з ГНН проявляє нефропротекторні властивості: відновлює діурез та ШКФ, зменшує концентрацію білка в сечі та креатиніну в плазмі крові.

1. Яковлева Л. В. Вплив природного адсорбенту цеоліту на виразність гіперазотемії у щурів / Л. В. Яковлева, Е. О. Ковальова, Ю. Б. Лар'яновська / Клінічна фармація. – 2009. – Т. № 13, № 4. – С. 54–57.
2. Бойко А. И. Опыт применения комбинированной фитотерапии у больных с уретеролитиазом / А. И. Бойко, А. А. Губарь // Журнал «Почки». – 2013. – № 1. – С. 63–66.
3. Берхин Е. Б. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена / Е. Б. Берхин, Ю. И. Иванов. – Барнаул : Алтайское книжн. изд-во, 1972. – 199 с.
4. Barnes J. Herbal medicines / J. Barnes, L. A. Anderson, J. D. Phillipson. – London, Chicago : Pharmaceutical Press, 2007. – 710 p.
5. Хоменко В. С. Лікарські рослини у ветеринарії, медичній і народній практиці: довідник / В. С. Хоменко, Н. Р. Хоменко. – К. : Урожай, 1993. – 168 с.
6. Антиейджинг: фітотерапія проти старіння: монографія / Л. В. Соколова, О. І. Павх, О. М. Шаповал [та ін.]; за ред. доц. Л. В. Соколової. – Тернопіль : Крок, 2011. – 190 с.
7. Соколова Л. В. Фармакологічна дія кавуна та аналіз номенклатури лікарських препаратів і біологічно активних добавок на його основі / Л. В. Соколова, С. В. Горобець // Фармацевтичний часопис. – 2009. – № 2. – С. 74–77.
8. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. За ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
9. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / [Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захарина Е. А., Западнюк Б. В.]. – К. : Вища школа, 1983. – 381 с.
10. Рябов С. И. Функциональная нефрология / С. И. Рябов, Ю. В. Наточин. – СПб. : Лань, 1997. – 300 с.
11. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень: метод. рекомендації. / С. Ю. Штриголь, В. М. Лісовий, І. А. Зупанець [та ін.]. – К., 2009. – 47 с.

В. Ю. Слесарчук

Дослідження функціонального стану нирок щурів за умов застосування ліофільного порошку м'якоти кавуна в нормі та за гострої ниркової недостатності

В експерименті оцінювали вплив ліофільного порошку м'якоти кавуна (150 мг/кг) та референс-препаратів Гіпотіазиду (25 мг/кг) і Канефрону Н (27 мг/кг) на функціональний стан нирок у щурів (динаміку сечовиділення упродовж доби, швидкість клубочкової фільтрації) у нормі та на фоні токсичної гострої ниркової недостатності. Показано, що 7-добове введення ліофільного порошку м'якоти кавуна та Канефрону Н у щурів з гострою нирковою недостатністю виявляє нефропротекторну дію, значною мірою нормалізує показники виведення сечі, швидкість клубочкової фільтрації, екскреції.

Ключові слова: ліофільний порошок м'якоти кавуна, гостра ниркова недостатність, швидкість клубочкової фільтрації

В. Ю. Слесарчук

Исследование функционального состояния почек крыс в условиях применения лиофильного порошка мякоти арбуза в норме и при острой почечной недостаточности

В эксперименте оценивали влияние лиофильного порошка мякоти арбуза (ЛПК) (150 мг/кг) и референс-препаратов Гипотиазида (25 мг/кг) и Канефрона Н (27 мг/кг) на функциональное состояние почек у крыс (динамику мочеиспускания в течение суток, скорость клубочковой фильтрации и экскреторную способность) в норме. Под влиянием исследуемых препаратов отмечалось усиление мочеыведения и скорости клубочковой фильтрации, достоверное повышение экскреции мочевины и мочевой кислоты.

Токсическую острую почечную недостаточность моделировали подкожным введением этиленгликоля в дозе 6 мл/кг. Изучаемые препараты вводили за час до введения токсического агента и на протяжении 7 дней развития острой почечной недостаточности. В контрольной группе животных были выявлены характерные для острой почечной недостаточности изменения: снижение диуреза, возрастание концентрации креатинина крови вследствие резкого падения скорости клубочковой фильтрации, уменьшение экскреции креатинина, увеличение концентрации белка в моче. ЛПК в дозе 150 мг/кг и Канефрон Н в дозе 27 мг/кг при 7-дневном введении крысам на фоне острой почечной недостаточности проявляют нефропротекторные свойства. Об этом свидетельствует их способность восстанавливать диурез, предупреждать потерю белка с мочой, достоверно усиливать скорость клубочковой фильтрации, что закономерно приводит к снижению концентрации креатинина в плазме крови. По ряду показателей лиофильный порошок мякоти арбуза действует более эффективно, чем препарат сравнения «Канефрон Н». Усиление выведения продуктов азотистого обмена из организма крыс под влиянием ЛПК связано, предположительно, с наличием в его химическом составе аргинина, который, являясь предшественником синтеза оксида азота, расширяет сосуды почек, усиливает скорость клубочковой фильтрации.

Ключевые слова: лиофильный порошок мякоти арбуза, острая почечная недостаточность, скорость клубочковой фильтрации

V. Slesarchuk

Research of renal function in rats under administration of watermelon pulp lyophilic powder in normal state and toxic acute renal failure

The effect of watermelon pulp lyophilic powder (150 mg/kg) and reference drugs hydrochlorothiazide (25 mg/kg) and Kanephron H (27 mg/kg) on renal function in rats (dynamics of urination during the day, glomerular filtration rate and excretory capacity) in normal state was evaluated in the study. Under the influence of the drugs increased urinary excretion and glomerular filtration rate, significant increase in the excretion of urea and uric acid were noted.

Experimental model of toxic acute renal failure was performed by ethylene glycol subcutaneous injection (6 ml/kg). Studied drugs were administered one hour before the injection of the toxic agent and during 7 days of acute renal failure. Specific for acute renal failure changes were identified in the control group of animals: decreased diuresis, increased blood creatinine concentration because of sharp fall in glomerular filtration rate, decreased creatinine excretion, increased urine protein concentration. Administration of drugs watermelon pulp lyophilic powder (150 mg/kg) and Kanephron H (27 mg/kg) during 7 days shows nephroprotective properties in rats with acute renal failure. This is evidenced by their ability to restore diuresis, prevent protein loss with urine, significantly enhance the glomerular filtration rate, which naturally leads to reduction of plasma creatinine concentration. By a number of indicators watermelon pulp lyophilic powder is more effective than the reference drug Kanephron H. Enhancement of excretion of nitrogen metabolism products in rats under the influence of watermelon pulp lyophilic powder is related, presumably, to the presence of arginine in its chemical composition, which being a precursor of nitric oxide, dilates the blood vessels of the kidneys, increases the glomerular filtration rate.

Key words: watermelon lyophilic powder, acute renal failure, glomerular filtration rate

Надійшла: 19.05.2014 р.

Контактна особа: Слесарчук Владлена Юріївна, кандидат біологічних наук, викладач, кафедра загальної та клінічної фармації, ДЗ «Дніпропетровська державна медична академія МОЗ України», буд.9, вул. Дзержинського, м. Дніпропетровськ, 49044. Тел.: + 38 0 67 132 34 57.
Електронна пошта: vladaslesarchuk@rambler.ru

О. М. Чікіткіна, І. В. Ковалевська, Н. М. Кононенко, В. В. Чікіткіна

Експериментальне обґрунтування вибору дози та носія субстанції кверцетину в складі нового протидіабетичного засобу «Глікверину»

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: протидіабетичні засоби, кверцетин, поліетилендіоксид-6000, неусилін, протизапальна та антигіперглікемічна дії

Цукровий діабет (ЦД) належить до найрозповсюдженіших захворювань, які супроводжуються розвитком вторинних хронічних ускладнень, що призводять до ранньої втрати працездатності та високої смертності. За даними ВООЗ у розвинутих країнах розповсюдженість ЦД складає 5–7 % від загальної популяції [1], в Україні кількість зареєстрованих хворих на діабет перевищує 1,8 млн осіб, у яких переважає ЦД 2 типу (90–95 %) [2]. ЦД характеризується тяжкими судинними ускладненнями: мікроангіопатіями (нефропатія, ретинопатія та нейропатія) і макроангіопатіями (мозковий інсульт, інфаркт міокарда, гангрена нижніх кінцівок), що зумовлює актуальність пошуку нових підходів до лікування ЦД, спрямованих не лише на усунення гіперглікемії, а й на профілактику та уповільнення розвитку ускладнень. Доведено, що монотерапія ЦД 2 типу одним із пероральних цукрознижувальних препаратів має позитивні результати лише в перші 5–6 років захворювання, у подальшому виникає необхідність призначення комбінованої терапії препаратами з різних груп, які доповнюють один одного за механізмами дії [3]. Тому одним із перспективних напрямів є розробка комбінованих препаратів з різними механізмами гіпоглікемічної та профілактичної дії щодо вторинних ускладнень. До переваг комбінованих лікарських засобів належать наявність більш вираженого цукрознижувального ефекту та зменшення побічних реакцій

за рахунок зниження дози кожного компонента. Головною проблемою при розробці комбінованих препаратів є вибір складових компонентів, які б чинили необхідну терапевтичну дію та відповідали сучасним вимогам до нових протидіабетичних засобів. На цей час існує декілька комбінацій цукрознижувальних препаратів, які поєднують секретогоги та сенситайзери, найчастіше, глібенкламід і метформін (глюкованс, глібомет, дуотрол). Проте ці засоби поряд з високою ефективністю мають низку протипоказань та побічних реакцій. Тому актуальним залишається створення безпечних комбінованих засобів, що діють на більшість патогенетичних ланок ЦД.

У цьому аспекті в Національному фармацевтичному університеті сумісними зусиллями вчених кафедр патологічної фізіології та заводської технології ліків розроблено новий комбінований протидіабетичний засіб глікверин на основі інгібітора α -глюкозидаз воглібозу та антиоксиданта кверцетину. Вибір воглібозу заснований на його здатності зменшувати всмоктування вуглеводів у кишечнику й, таким чином, регулювати рівень постпрандіальної гіперглікемії [4, 5]. Фармакологічні ефекти кверцетину пов'язані з його вираженими протизапальними та антиоксидантними властивостями [6, 7]. Дотепер накопичені дані щодо здатності кверцетину послаблювати більшість симптомів метаболічного синдрому, передусім, зменшувати інсулінорезистентність, гіперглікемію, дисліпідемію, пригнічувати оксидативний стрес та знижувати активність кишкової мальтази, подібно дії акарбози [8–10]. Незважаючи на широкий спектр фармакологічної дії кверцетину, розробка нових лікарських форм на

його основі обмежена недостатньою розчинністю. Тому для створення пероральної лікарської форми глікверину було необхідно вибрати носій кверцетину, який би покращив його розчинність для збільшення біодоступності та отримання більш вираженого фармакологічного ефекту.

Мета дослідження – експериментальне обґрунтування вибору ефективної дози кверцетину та носіїв для створення лікарської форми глікверину.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 120 білих нелінійних щурах обох статей масою 180–200 г. Утримання та маніпуляції з щурами проведені з дотриманням правил «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) [11].

Одним з напрямів збільшення біодоступності є використання твердих дисперсій (ТД) діючих речовин. Тверді дисперсії використовуються для оптимізації вивільнення та посилення фармакологічної ефективності активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) за рахунок модифікації швидкості вивільнення, пролонгації дії, направленої транспорту АФІ до органу мішені, зменшення побічних реакцій, токсичності та подразнювального ефекту за рахунок зменшення дози. Застосування ТД з використанням полімерів заслуговує особливої уваги внаслідок біоадгезивних властивостей полімерів. При попаданні на слизові оболонки та шкіру макромолекули високомолекулярних речовин адсорбуються на їхній поверхні й, як правило, збільшують проникність клітинних мембран (у низьких концентраціях), що забезпечує активний трансмембранний транспорт АФІ. Як носій було обрано поліетилендіоксид-6000 (ПЕО). Присутність ПЕО призводить до збільшення змочування, знижує кристалічність АФІ, сприяє утворенню поліморфа та ін. ТД були отримані рідиннофазним способом шляхом сплавлення спиртового розчину кверцетину з ПЕО з наступним випаровуванням розчинника (І серія). Інша серія була виготовлена шляхом нагрівання спиртового розчину кверце-

тину з ПЕО до 75 °С та з додаванням неусиліну (ІІ серія). Неусилін, наданий ТОВ «Вітек Індастріал» (м. Одеса), застосовується як адсорбент для погано розчинних субстанцій з великою питомою поверхнею, збільшує біодоступність погано розчинних АФІ.

Для вивчення біодоступності лікарського засобу можуть бути використані різні експериментальні підходи, один з них – оцінка фармакологічної ефективності засобу. Для цього в даному дослідженні обрали легко відтворювану модель карагенінового набряку в щурів для дослідження протизапальної дії ТД кверцетину. Показником збільшення біодоступності кверцетину вважали посилення його протизапальної активності. Проведено 2 серії експерименту, у яких тварин було розподілено на такі групи по 6 у кожній: 1 – позитивний контроль, 2–6 – тварини, яким внутрішньошлунково вводили ТД кверцетину (НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна) у дозах 10, 25, 50, 75 та 100 мг/кг без неусиліну (І серія) або з неусиліном (ІІ серія), 7 – тварини, яким внутрішньошлунково вводили референс-препарат таблетки «Ортофен-Здоров'я» (діюча речовина – диклофенак натрію) у дозі 8 мг/кг.

Досліджувані речовини вводили внутрішньошлунково за 30 хв до введення флогогенного агента. Контрольним групам вводили воду. Через 30 хв під апоневроз задньої лапи щура субплантарно вводили 0,1 мл 1 % розчину карагеніну. Об'єм стопи вимірювали за допомогою механічного онкометра в динаміці: через 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 та 6,0 год після введення карагеніну [12]. Оцінку протизапальної дії кверцетину на різних носіях проводили за інтегральним показником площі під кривими «приріст об'єму лапи (у. о)/год» ($AUC_{anti-inflam}$). Активність кверцетину виражали в % та розраховували за формулою:

$$A = 100 - \frac{P_d}{P_k} \cdot 100 \%,$$

де: А – протизапальна активність; P_d – приріст об'єму лапи в дослідній групі; P_k – приріст об'єму лапи в контрольній групі.

На наступному етапі визначали ефективну дозу ТД кверцетину з неусиліном за антигіперглікемічною дією під час проведення орального тесту толерантності до глюкози (ОТТГ) у 3-місячних щурів (180–200 г) за умови інсулінорезистентності, викликаній підшкірними ін'єкціями дексаметазону (0,125 мл/кг, протягом 13 днів) [13]. Групи тварин: інтактний контроль; контрольна патологія; 4 групи щурів, які отримували ТД кверцетину з неусиліном у дозах 50, 75 і 100 мг/кг та препарат порівняння метформін у дозі 50 мг/кг («Гедеон Ріхтер», Німеччина). Кверцетин та метформін вводили одноразово внутрішньошлунково за 1 год до перорального введення глюкози (3 г/кг). Рівень глюкози в крові визначали глюкозооксидазним методом за допомогою наборів хімреактивів ВАТ НВП «Філісит-Діагностика» (м. Дніпропетровськ) через 30, 60 та 120 хв після навантаження. Глікемічну реакцію кверцетину при проведенні ОТТГ оцінювали за інтегральним показником глікемії – площею під глікемічними кривими (glycemic area under curve, AUC_{glu} (ммоль/л·хв)).

Отримані експериментальні дані обробляли за допомогою стандартного пакета статистичних програм «Statistica 6,0», відмінності вважали статистично значущими при $p \leq 0,05$. Площу під кривими розраховували за допомогою пакета статистичних програм «MedCalc, v. 9.3.7.0».

Результати та їх обговорення. За результатами, наведеними в таблиці, введення кверцетину на різних основах у діапазоні доз 10–100 мг/кг сприяло зниженню набряку лапи щурів, викликаного карагеніном, не в однаковому ступені. Найвиразніше зменшення набряку спостерігали під впливом кверцетину на основі ПЕО та неусиліну в дозах 50, 75 і 100 мг/кг, про що свідчить достовірне зниження $AUC_{anti-inflam}$ порівняно з тваринами позитивного контролю. Проте більш виразне зниження $AUC_{anti-inflam}$ спостерігали в групах тварин, які отримували кверцетин на основі неусиліну в дозах 50, 75 і 100 мг/кг: протизапальна активність у цих групах склала 47, 42 і 43 % відповідно проти 32–33 % у групах тварин, яким вводили кверцетин на основі ПЕО (таблиця).

Таблиця

Протизапальна активність кверцетину з основами поліетилендіоксиду-6000 та неусиліну на моделі карагенінового набряку в щурів

Група тварин	$AUC_{anti-inflam}$ у. о/год	Протизапальна активність, %
<i>I серія</i>		
Позитивний контроль	174,96 ± 3,16	–
Кверцетин + поліетилендіоксид-6000, 10 мг/кг	171,79 ± 7,37 [§]	2
Кверцетин + поліетилендіоксид-6000, 25 мг/кг	148,96 ± 12,71 [§]	15
Кверцетин + поліетилендіоксид-6000, 50 мг/кг	118,96 ± 7,94 ^{*/§}	32
Кверцетин + поліетилендіоксид-6000, 75 мг/кг	121,96 ± 4,44 ^{*/§}	30
Кверцетин + поліетилендіоксид-6000, 100 мг/кг	118,08 ± 6,56 ^{*/§}	33
Ортофен, 8 мг/кг	61,71 ± 3,38 [*]	65
<i>II серія</i>		
Позитивний контроль	185,00 ± 7,81	–
Кверцетин + неусилін, 10 мг/кг	185,62 ± 7,92	–
Кверцетин + неусилін, 25 мг/кг	155,29 ± 9,07 ^{*/§}	16
Кверцетин + неусилін, 50 мг/кг	97,33 ± 2,97 ^{*/§/#}	47
Кверцетин + неусилін, 75 мг/кг	108,08 ± 4,78 ^{*/§}	42
Кверцетин + неусилін, 100 мг/кг	106,08 ± 7,09 ^{*/§}	43
Ортофен, 8 мг/кг	62,58 ± 8,94 [*]	66

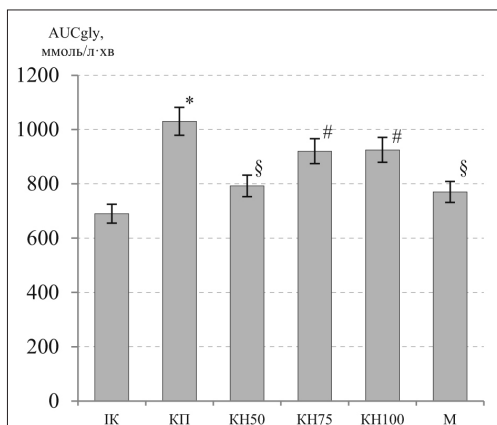
Примітка. *Відмінності достовірні щодо групи позитивного контролю, $p < 0,05$; [§]відмінності достовірні щодо групи ортофену, $p < 0,05$; [#]відмінності достовірні щодо групи «Кверцетин + поліетилендіоксид-6000, 75 мг/кг», $p < 0,05$.

Крім того, під впливом кверцетину на основі неусиліну в дозі 50 мг/кг значення $AUC_{anti-inflam}$ були достовірно нижчими за аналогічний показник у групі тварин, яким водили кверцетин на основі ПЕО у дозі 75 мг/кг та виявляли виразну тенденцію до зниження порівняно зі значеннями $AUC_{anti-inflam}$ у групах тварин, яким водили кверцетин на основі ПЕО у дозі 50 і 100 мг/кг.

Таким чином, найбільшу протизапальну активність на моделі карагенінового набряку виявляє кверцетин з неусиліном у дозах 50–100 мг/кг. Як було наведено вище, неусилін посилює розчинність та пролонгує період вивільнення кверцетину, що сприяє збільшенню біодоступності засобу і, як наслідок, підвищенню його протизапальної активності, зумовленої поєднанням антиоксидантної, мембраностабілізуючої, а на моделі карагенінового набряку – антициклооксигеназної дій [14].

Метою наступного етапу стало визначення найефективнішої дози кверцетину з неусиліном за антигіперглікемічною дією за умови ОТТГ у щурів з інсулінорезистентністю, викликану дексаметазоном. За результатами проведеного дослідження (рисунок) встановлено, що найбільшу антигіперглікемічну дію виявив кверцетин з неусиліном у дозі 50 мг/кг, який статистично достовірно знижував рівень інтегральної глікемії під час тесту толерантності до глюкози на 23 % порівняно з групою тварин контрольної патології. Під впливом кверцетину в дозах 75 і 100 мг/кг також спостерігали зниження рівня глікемії, але зареєстровані зміни були менше вираженими, ніж під дією кверцетину в дозі 50 мг/кг та не достовірними внаслідок великої дисперсії внутрішньогрупових даних (рисунок).

Аналіз отриманих даних дозволяє припустити, що завдяки збільшенню біодоступності кверцетину з додаванням неусиліну в дозі 50 мг/кг встановлений антигіперглікемічний ефект, який розвинувся за короткий проміжок часу (на 30 хв) і зберігався до



ІК – інтактний контроль
 КП – контрольна патологія
 КН50, КН75, КН100 – групи тварин, яким вводили кверцетин з неусиліном у дозах 50 мг/кг, 75 мг/кг, 100 мг/кг відповідно
 М – група тварин, яким вводили метформін у дозі 50 мг/кг

Рисунок. Антигіперглікемічна дія кверцетину з неусиліном на моделі інсулінорезистентності в щурів із порушеною толерантністю до глюкози

*Примітка. Кількість тварин у кожній групі = 6; *відмінності достовірні щодо групи інтактного контролю, $p < 0,05$; \$відмінності достовірні щодо групи контрольної патології, $p < 0,05$; #відмінності достовірні щодо групи метформіну, $p < 0,05$.*

кінця тесту. При застосуванні кверцетину в дозах 75 та 100 мг/кг рівень глюкози в крові тварин вірогідно знижувався пізніше (на 120 хв), а значення AUC_{glu} залишалися достовірно вищими за значення інтактного контролю, що свідчить про нераціональність підвищення дози кверцетину понад 50 мг/кг. Слід зазначити, що за ступенем вираженості антигіперглікемічної дії кверцетин у дозі 50 мг/кг не поступався метформіну, хоча й не перевершував його, що не суперечить даним інших авторів про його протидіабетичні властивості [15].

Таким чином, для подальших досліджень обрано дозу 50 мг/кг – як мінімальну дозу, що чинить максимальний ефект.

Висновки

1. На моделі карагенінового набряку досліджено протизапальну активність

кверцетину і встановлено, що тверда дисперсія з неусиліном підвищує його біодоступність, що обумовлює доцільність її використання при створенні нового комбінованого протидіабетичного засобу «Глікверин».

2. На моделі інсулінорезистентності в щурів визначено мінімальну ефективну дозу твердої дисперсії кверцетину з неусиліном – 50 мг/кг, яку включено до складу таблеток під умовною назвою «Глікверин».

1. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030 / D. R. Whiting, L. Guariguata, C. Weil [et al.] // *Diabetes Res. Clin. Pract.* – 2011. – V. 94, № 3. – P. 311–321.
2. Аналіз діяльності ендокринологічної служби України у 2010 році та перспективи розвитку медичної допомоги хворим з ендокринною патологією / О. С. Ларін, В. І. Паньків, М. І. Селіваненко, О. О. Грачова // *Міжнародний ендокринологічний журнал.* – 2011. – № 3 (35). – С. 10–19.
3. Kimmel B. Oral Agents for Type 2 Diabetes: An Update / B. Kimmel, E.M. Inzucchi // *Clin. Diabetes.* – 2005. – V. 23 (2). – P. 64–76.
4. Dabhi A. S. Voglibose: an alpha glucosidase inhibitor / A. S. Dabhi, N. R. Bhatt, M. J. Shah // *J. Clin. Diagn. Res.* – 2013. – V. 7 (12). – P. 3023–3027.
5. An alpha-glucosidase inhibitor, voglibose, reduces oxidative stress markers and soluble intercellular adhesion molecule 1 in obese type 2 diabetic patients / N. Satoh, A. Shimatsu, K. Yamada [et al.] // *Metabolism.* – 2006. – № 55 (6). – P. 786–793.
6. Anti-inflammatory activity of quercetin and isoquercitrin in experimental murine allergic asthma / A. P. Rogerio, A. Kanashiro, C. Fontanari [et al.] // *Inflamm. Res.* – 2007. – № 56. – P. 402–408.
7. Asgary S. Protective effect of flavonoids against red blood cell hemolysis by free radicals / S. Asgary, G. H. Naderi, N. Askari // *Exp. Clin. Cardiol.* – 2005. – № 10 (2). – P. 88–90.
8. Quercetin ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia and improves antioxidant status in type 2 diabetic db/db mice / S. M. Jeong, M. J. Kang, H. N. Choi [et al.] // *Nutr. Res. Pract.* – 2012. – № 6 (3). – P. 201–207.
9. Quercetin attenuates fasting and postprandial hyperglycemia in animal models of diabetes mellitus / J. H. Kim, M. J. Kang, H. N. Choi [et al.] // *Nutr. Res. Pract.* – 2011. – № 5 (2). – P. 107–111.
10. Боріков О. Ю. Вплив кверцетину на метаболічні прояви синдрому інсулінорезистентності за умов дефіциту естрогенів / О. Ю. Боріков, Н. І. Горбенко // *Проблеми ендокринної патології.* – 2009. – № 2. – С. 65–70.
11. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasbourg: Council of Europe, 1986. – 53 p.
12. Експериментальне (доклінічне) вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби / Дроговоз С. М., Зупанець І. А., Мохорт М. А. [та ін.] // *Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації*: за ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – С. 292–306.
13. Експериментальне вивчення нових гіпоглікемічних засобів / Полторак В. В., Горбенко Н. І. // *Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації*: за ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – С. 396–408.
14. The anti-inflammatory flavones quercetin and kaempferol cause inhibition of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase 2 and reactive C protein, and down regulation of the nuclear factor kappaB pathway in Chang Liver cells / V. Garcia Mediavilla, I. Crespo, P.S. Collado [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2007. – V. 28, № 2–3. – P. 221–229.
15. Ahrens M. J. Effect of emulin on blood glucose in type 2 diabetics / M. J. Ahrens, D. L. Thompson // *J. Med. Food.* – 2013. – V. 16, № 3. – P. 211–215.

О. М. Чікіткіна, І. В. Ковалевська, Н. М. Кононенко, В. В. Чікіткіна

Експериментальне обґрунтування вибору дози та носія субстанції кверцетину в складі нового протидіабетичного засобу «Глікверин»

Хронічний перебіг цукрового діабету, велика кількість тяжких ускладнень, які призводять до інвалідизації та збільшують смертність, обумовлюють актуальність пошуку нових підходів до його лікування. До перспективних напрямів відноситься розробка комбінованих препаратів з різними механізмами антигіперглікемічної та профілактичної дій щодо вторинних ускладнень. З цієї метою в Національному фармацевтичному університеті розроблено новий комбінований протидіабетичний засіб «Глікверин», який містить інгібітор α -глюкозидаз воґлібоз та антиоксидант кверцетин. Для покращання розчинності та збільшення біодоступності кверцетину в лікарській формі як експериментальні носії було вибрано поліетилендіоксид-6000 та поліетилендіоксид-6000 з додаванням неусиліну.

Мета дослідження – експериментальне обґрунтування вибору ефективної дози кверцетину за умов використання різних носіїв. Біодоступність визначали за протизапальною активністю на моделі карагенінового набряку лапи в щурів та за антигіперглікемічною дією на моделі порушення толерантності до глюкози, викликаній дексаметазоном.

Більш виразне зниження $AUC_{\text{anti-inflam}}$ спостерігали в групах тварин, які отримували кверцетин на основі неусиліну в дозах 50, 75 і 100 мг/кг: протизапальна активність у цих групах склала 47, 42 і 43 % відповідно проти 32–33% в групах тварин, яким вводили кверцетин на основі поліетилендіоксиду 6000. Крім того, під впливом кверцетину на основі неусиліну в дозі 50 мг/кг значення $AUC_{\text{anti-inflam}}$ були достовірно найнижчими. Отже, основа неусилін посилює розчинність та пролонгує період вивільнення кверцетину, що сприяє збільшенню біодоступності засобу. На моделі переддіабету, викликаного дексаметазоном, встановлено, що найбільшу антигіперглікемічну дію виявив кверцетин з неусиліном в дозі 50 мг/кг, який статистично достовірно знижував рівень інтегральної глікемії під час тесту толерантності до глюкози на 23 % порівняно з групою тварин контрольної патології. За ступенем вираженості антигіперглікемічної дії кверцетин у дозі 50 мг/кг не поступався метформіну. Таким чином, для подальших досліджень обрано дозу 50 мг/кг – як мінімальну дозу, що чинить максимальний ефект.

Ключові слова: протидіабетичні засоби, кверцетин, поліетилендіоксид-6000, неусилін, протизапальна та антигіперглікемічна дії

О. М. Чикиткина, И. В. Ковалевская, Н. Н. Кононенко, В. В. Чикиткина
Экспериментальное обоснование выбора дозы и носителя субстанции кверцетина в составе нового противодиабетического средства «Гликверин»

Хроническое течение сахарного диабета, большое количество тяжелых осложнений, которые приводят к инвалидизации и увеличивают смертность, обуславливают актуальность поиска новых подходов к его лечению. К перспективным направлениям относится разработка комбинированных препаратов с различными механизмами антигипергликемического и профилактического действия относительно вторичных осложнений. С этой целью в Национальном фармацевтическом университете разработано новое комбинированное противодиабетическое средство «Гликверин», которое содержит ингибитор α -глюкозидаз воглибоз и антиоксидант кверцетин. Для улучшения растворимости и увеличения биодоступности кверцетина в лекарственной форме в качестве экспериментальных носителей были выбраны полиэтилендиоксид-6000 и полиэтилендиоксид-6000 с добавлением неусилина.

Цель исследования – экспериментальное обоснование выбора эффективной дозы кверцетина с различными носителями. Биодоступность определяли по противовоспалительной активности на модели каррагенинового отека лапы у крыс, а также по антигипергликемическому действию на модели нарушения толерантности к глюкозе, вызванной дексаметазоном.

Ниболее выраженное снижение $AUC_{\text{anti-inflam}}$ наблюдали в группах животных, которые получали кверцетин на основе неусилина в дозах 50, 75 и 100 мг/кг: противовоспалительная активность в этих группах составила 47, 42 и 43% соответственно по сравнению с 32–33 % в группах животных, которым вводили кверцетин на основе полиэтилендиоксида-6000. Кроме того, под влиянием кверцетина на основе неусилина в дозе 50 мг/кг значения $AUC_{\text{anti-inflam}}$ были достоверно самыми низкими.

Таким образом, основа неусилин усиливает растворимость и пролонгирует период высвобождения кверцетина, что способствует увеличению биодоступности средства. На модели преддиабета, вызванного дексаметазоном, установлено, что наиболее выраженное антигипергликемическое действие проявил кверцетин с неусилином в дозе 50 мг/кг, который статистически достоверно снижал уровень интегральной гликемии во время теста толерантности к глюкозе на 23 % по сравнению с группой животных контрольной патологии. По степени выраженности антигипергликемического действия кверцетин в дозе 50 мг/кг не уступал метформину. Таким образом, для дальнейших исследований выбрана доза 50 мг/кг – как минимальная, оказывающая максимальный эффект.

Ключевые слова: противодиабетические средства, кверцетин, полиэтилендиоксид, неусилин, противовоспалительное и антигипергликемическое действия

О. М. Chikitkina, I. V. Kovalevskaya, N. N. Kononenko, V. V. Chikitkina
Experimental substantiation of dose selection and carrier for quercetin substance in the new antidiabetic agent Glikverin

Chronic course of diabetes, a large number of serious complications that lead to disability and increased mortality, determine the relevance of the search for new approaches to its treatment. Promising areas include the development of combined drugs with different mechanisms of antihyperglycemic and preventive actions regarding secondary complications. For this purpose the National University of Pharmacy has developed a new pharmaceutical combined antidiabetic agent Glikverin, which contains α -glucosidase inhibitor voglibose and antioxidant quercetin. To improve the solubility and increase bioavailability of quercetin in the dosage form as pilot carriers were selected polyethylene dioxide 6000 and polyethylene dioxide 6000 with addition of neusilin.

The purpose of this study was experimental substantiation of effective dose selection of quercetin using different carriers. Bioavailability was studied by anti-inflammatory activity on the model of carrageenan

paw edema in rats, and also by hyperglycemic effect on the model of impaired glucose tolerance induced by dexamethasone.

The most marked reduction $AUC_{\text{anti-inflam}}$ was observed in groups of animals that received quercetin based on neusilin at the doses of 50, 75 and 100 mg / kg: the anti-inflammatory activity in these groups was 47, 42 and 43%, respectively, compared to 32–33 % in groups of animals which were administered quercetin on the basis of PEO. In addition, $AUC_{\text{anti-inflam}}$ value was the lowest under the influence of quercetin based on neusilin in dose 50 mg/kg. Thus, basis of neusilin enhances solubility and prolongs the release period of quercetin, that means increasing of the bioavailability. On the model of pre-diabetes caused by dexamethasone, was found that the most pronounced antihyperglycemic effect quercetin showed with neusilin at a dose of 50 mg/kg, which is statistically significant reduced level of integrated glycaemia by 23 %. On the severity of antihyperglycemic action quercetin at a dose of 50 mg/kg did not concede to metformin. Thus for further studies the dose of 50 mg/kg was selected as a minimum, providing maximum effect.

Key words: antidiabetic drugs, quercetin, polyethylene dioxide, neusilin, anti-inflammatory and anti-hyperglycemic effect

Надійшла: 12.06.2014 р.

Контактна особа: Чікіткіна Валентина Василівна, кандидат біологічних наук, доцент, кафедра патологічної фізіології, Національний фармацевтичний університет. Тел.: +38 057 706 30 66.
Електронна пошта: chikitkina.valentina@mail.ru

М. О. Щербак, І. Ф. Бєленічев, А. В. Абрамов, Н. В. Бухтіярова,
С. А. Моргунцова, С. В. Павлов, А. Г. Каплаушенко

Дослідження кардіопротекторної активності 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4- тріазол-4-аміну

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, інфаркт
міокарда, кардіопротекторна активність

Актуальним завданням сучасної фармакології є розробка вискоєфективних і безпечних лікарських препаратів для лікування патологій серцево-судинної системи – ішемічної хвороби серця (ІХС) та її ускладнення – інфаркту міокарда (ІМ) [1–4]. Сучасний арсенал засобів лікування ІХС включає не тільки адреноблокатори, антагоністи кальцію, антиагреганти, але й метаболітропні кардіопротектори – препарати, які переривають або зменшують каскад несприятливих метаболічних реакцій, викликаних ішемією, і таким чином захищають міокард [2, 3, 5]. Еталонним кардіопротектором вважають мілдронат [4, 6, 7]. За даними експериментальних та клінічних досліджень мілдронат на рівні з триметазидином і тіотріазоліном визнаний метаболітропним кардіопротектором. Мілдронат має велике значення для профілактики і лікування ішемічних ушкоджень міокарда через здатність покращувати енергетичну стабільність кардіоцитів і нормалізувати скоротливу функцію серця [1, 4, 6–9]. Мілдронат також відносять до модуляторів апоптозу, завдяки чому характеризується сприятливим терапевтичним профілем у хворих на серцеву недостатність [4, 6]. Значний інтерес як об'єкт дослідження кардіопротекторної активності представляє азогетероциклічна система 1,2,4-тріазолу, багато похідних якої мають цитопротекторну дію, що реалізується на клітинному рівні, та впливають безпосередньо на ішемізовані клітини [1, 7–9]. Похідні 1,2,4-тріазолу

здатні чинити позитивний вплив на енергетичний обмін при ішемії міокарда, головного мозку, а також при нормобаричній гіпоксії. Також похідним 1,2,4-тріазолу притаманний потужний антиоксидантний ефект [1]. Вищевикладене демонструє перспективність пошуку речовин з кардіопротекторною активністю в ряду похідних 1,2,4-тріазолу. Нами отримані нові оригінальні похідні 1,2,4-тріазолу, а саме 3-алкілтіо(сульфо)-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазоли з прогнозованою протиішемічною, антигіпоксичною та кардіопротекторною активністю. За результатами попередніх широких біологічних досліджень для подальшого поглибленого вивчення було обрано найактивнішу сполуку, а саме 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-амін, що може знайти своє застосування як потенційний лікарський засіб. *Мета дослідження* – вивчення кардіопротекторної активності 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну.

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження проведено згідно з «Методичними рекомендаціями з доклінічного вивчення потенційних лікарських засобів з кардіопротекторною активністю» [10–12].

Усі маніпуляції було проведено згідно з положенням про використання тварин у біомедичних дослідках (Страсбург, 1986 р., зі змінами, внесеними в 1998 р.) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001 р.), які узгоджено з положеннями «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та науковою метою» [13]. Досліди було

виконано на 50 щурах лінії Вістар масою 170–180 г, отриманих із ПП «Біомодельсервіс». Тривалість карантину (акліматизаційного періоду) для всіх тварин становила 14 днів [13]. Досліди проводили на моделі гострого ІМ у щурів, який моделювали поетапним введенням ізадрину та пітуїтрину за схемою: пітуїтрин 0,5 Од/кг – внутрішньочеревно, через 20 хв – ізадрин 100 мг/кг – підшкірно, через 6 год – ін'єкцію ізадрину повторювали, через 24 год вводили обидва препарати в тих самих дозах [10–12]. У роботі було використано пітуїтрин для ін'єкцій виробництва АВ «Endokrininiai» (Литва) та ізадрин виробництва ВАТ «Нижфарм» (Російська Федерація). Зазначена модель відтворює малоосередковий ІМ. Тварин виводили з експерименту через 60 хв після останньої ін'єкції під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг). Кардіопротекторну активність 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну оцінювали за зниженням летальності, покращанням показників ЕКГ, зниженням гіперферментемії кардіоспецифічних ізоензимів, підвищенням активності антиоксидантних ферментів та зниженням маркерів оксидативного стресу. Крім того, кардіопротекторну активність оцінювали за станом системи оксиду нітрогену міокарда. Досліджувану сполуку вводили тричі на добу паралельно з формуванням інфаркту внутрішньошлунково у вигляді суспензії з Твіном-80 за 30 хв до ін'єкції пітуїтрину та ізадрину: у дозі 50 мг/кг. Референс-препарат мілдронат вводили в дозі 100 мг/кг [9].

У кожній групі було по 10 тварин. У тварин реєстрували ЕКГ шляхом накладання на кінцівки голчатих електродів згідно із загальноприйнятою схемою в стандартних відведеннях під тіопенталнатрієвим наркозом (40 мг/кг). Аналіз ЕКГ було проведено комп'ютерним аналізатором CardioCom-2000plus (ХАІ-медіка, Україна). Як електрокардіографічний критерій ефективності протиішемічної дії препаратів використовували метод ЕКГ картування з розрахунком показників сумарного ступеня зміщення сегмента ST відносно ізолінії

($\Sigma_{\Delta}ST$). Про ішемічне пошкодження міокарда свідчила гіперферментемія серцевого ізоензиму креатинфосфокінази (МВ-КФК). Активність МВ-КФК у сироватці крові визначали після хроматографічного розділення оптичним тестом Варбурга.

Тканини серця гомогенізували на холоді в сольовому ізотонічному середовищі (0,15 М КСl) за температури +4 °С за допомогою скляного гомогенізатора (співвідношення тканина – сольовий розчин – 1:20). Потім за температури +4 °С методом диференціального центрифугування на рефрижераторній центрифугі Sigma 3-30k (Німеччина) виділяли цитозольну фракцію. Для очищення цитозольної фракції від великих клітинних фрагментів попередньо проводили центрифугування протягом 7 хв за 1000 g, після чого супернатант повторно центрифугували протягом 20 хв за 17000 g [14].

Безбілковий екстракт отримували додаванням точної наважки гомогенату серця в хлорну кислоту (0,6 М) з наступною нейтралізацією 5,0 М калію карбонатом [14].

Для оцінки інтенсивності оксидативного стресу в міокарді визначали маркери окисної модифікації білка – альдегідфенілгідразони (АФГ) та карбоксифенілгідразони (КФГ). Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю глутатіонпероксидази (ГПР). Про продукцію NO свідчив уміст його стабільних метаболітів – нітратів у цитозольній фракції міокарда [5, 12, 15–17].

Аналіз нормальності розподілення оцінювали за критеріями Колмогорова-Смірнова (D) та Lilliefors, а також Shapiro-Wilk (W), якому віддавали перевагу. У випадку розподілу, який відрізнявся від нормального, чи аналізу порядкових змінних використовували U-критерій Mann-Whitney для двох незв'язаних виборок, для більшого числа виборок – критерій Kruskal-Wallis H з подальшими порівняннями за Games-Howell. Якщо кількість груп становила 2, то статистичну значимість розрізнення оцінювали за допомогою гетероскедастичного t-критерію U. Gosset для незв'язаних груп з поправкою Бонферроні.

Дані подано у вигляді середньої та стандартної помилок репрезентативності вибіркового середнього значення. Результати дослідження оброблено із застосуванням статистичного пакета ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoftInc., № AXXR712D833214FAN5), а також «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». Окремі статистичні процедури й алгоритми реалізовано у вигляді спеціально написаних макросів у відповідних програмах. Для всіх видів аналізу статистичними значущими вважали розрізнення при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Експериментальний ІМ у тварин характеризувався збільшенням ЧСС порівняно з інтактною групою. Разом з цим, ураховуючи особливості експериментальної моделі [1, 8–10] та дифузний характер ішемічного пошкодження міокарда, було виявлено збільшення сегмента ST від ізоліній. У групі невиліковних тварин з ІМ (контроль) загинуло 40 % тварин (табл. 1).

У сироватці крові тварин реєстрували гіперферментемію МВ-КФК, що свідчило про ішемічне пошкодження мембран кардіоцитів. Уведення 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну та референс-препарату мілдронату призводило до зменшення смертності тварин із ІМ, а також зменшення ішемічного пошкодження міокарда. Отже, у групах тварин з ІМ, які отримували лікування, спостерігали зменшення під-

сумованого відхилення ST від ізолінії та зниження активності МВ-КФК у сироватці крові. За цими показниками 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-амін продемонстрував більш виражену кардіопротекторну активність порівняно з ефективністю референс-препарату мілдронату.

Загальновідомо, що ішемія міокарда супроводжується пригніченням антиоксидантної системи та розвитком оксидантного стресу [1, 2, 7–9]. За моделювання ІМ спостерігали пригнічення активності ГПР і підвищення рівня маркерів окислювальної модифікації білка АФГ і КФГ у міокарді (табл. 2). Уведення 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну та мілдронату спричиняло значний антиоксидантний ефект, що підтверджувалося підвищенням активності ГПР та зниженням умісту маркерних продуктів оксидативного стресу – АФГ та КФГ у цитозолі міокарда. На підставі отриманих результатів щодо антиоксидантного механізму кардіопротекторної дії 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну було встановлено, що ця сполука за ступенем зниження маркера ОМБ-КФГ цілком певно мала перевагу над мілдронатом. За умов експериментального ІМ спостерігали обмеження процесів синтезу оксиду азоту, про що свідчить зниження продукції стабільних метаболітів оксиду азоту – нітратів (табл. 2). Уведення тваринам з ІМ 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-

Таблиця 1

Показники смертності та ішемічного пошкодження серця за умов експериментального інфаркту міокарда та впливу досліджуваних сполук (n = 10)

Група тварин \ Показник, який досліджується	Смертність тварин, %	Активність МВ-КФК, ммоль/л · год	Підсумовані відхилення ST від ізолінії, мВ
Інтактна	0	$0,050 \pm 0,001$	0
Інфаркт міокарда (контрольна)	40 (4/10)	$0,220 \pm 0,007$	$221,0 \pm 36,0$
Інфаркт міокарда + 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-амін, 50 мг/кг	90^{*1} (1/10)	$0,100 \pm 0,002^{*1}$	$97,0 \pm 10,5^{*1}$
Інфаркт міокарда + мілдронат, 100 мг/кг	30 (3/10)	$0,170 \pm 0,002^{*}$	$121,0 \pm 15,0^{*}$

Примітка. Тут і в табл. 2: $^{*}P < 0,005$ відносно контрольної групи; $^{1}P < 0,005$ відносно групи мілдронату.

**Показники антиоксидантної системи, окислювальної модифікації білка
за умов експериментального інфаркту міокарда та впливу досліджуваних
сполук (n = 10)**

Показник, який досліджується Група тварин	Активність ГПР, мкмоль/ мг · хв	Уміст АФГ, у. о./ г білка	Уміст КФГ, у. о./ г білка	Уміст мета- болітів NO, мкмоль/ г білка
Інтактна	147,1 ± 12,1	11,20 ± 0,90	8,2 ± 0,8	21,10 ± 2,80
Інфаркт міокарда (контрольна)	63,7 ± 6,1	37,2 ± 2,7	18,30 ± 0,77	11,70 ± 1,31
Інфаркт міокарда + 3-(4-нітро- феніл)-5-(нонілсульфоніл)- 1,2,4-тріазол-4-амін, 50 мг/кг	95,1 ± 9,0*	21,2 ± 1,8*	8,70 ± 0,71* ¹	16,7 ± 1,4* ¹
Інфаркт міокарда + мілдронат, 100 мг/кг	97,7 ± 7,1*	28,7 ± 2,2	12,4 ± 1,0*	10,4 ± 0,8

1,2,4-тріазол-4-аміну призводило до збільшення продукції NO, про що свідчило підвищення вмісту нітратів. За ступенем впливу на приріст нітратів досліджувана сполука переважала мілдронат. Можливий механізм кардіопротекторної активності 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну, з нашої точки зору, може бути пояснений його антиоксидантною дією та впливом на систему NO. NO-залежні механізми кардіопротекторної дії 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну формують певне уявлення про кардіопротекторну дію 4-аміно-1,2,4-тріазолів і 5-тіо-1,2,4-тріазолів [1, 2, 7–9], однак вимагають додаткових поглиблених досліджень.

Висновки

1. Внутрішньошлункове застосування 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну в дозі 50 мг/

кг паралельно з формуванням експериментального гострого ІМ призводить до зменшення смертності тварин та гіперферментемії МВ-КФК у сироватці крові, а також сприяє нормалізації ЕКГ, що характеризується зниженням сегмента ST.

2. Уведення тваринам з ІМ 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну призводить до збільшення стабільного метаболіту NO – нітрат-аніона в міокарді та до зменшення продуктів оксидативного стресу – АФГ і КФГ, а також підвищення активності антиоксидантного ферменту ГПР.

3. За показниками кардіопротекторної активності, такими як зменшення гіперферментемії МВ-КФК, зниження сегмента ST на ЕКГ, підвищення вмісту метаболітів NO у цитозолі міокарда, 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-амін має перевагу над мілдронатом.

1. Подходы к разработке и созданию метаболитотропных препаратов – производных 1,2,4-триазола / Беленичев И. Ф., Кучеренко Л. И., Стеблик В. С. [и др.] // Фармаком. – 2012. – № 3. – С. 78–82.
2. Метаболические кардиопротекторы / В. А. Визир, Н. А. Волошин, И. А. Мазур, И. Ф. Беленичев. – Запорожье, 2006. – 34 с.
3. Ольбинская Л. И. Коронарная и миокардиальная недостаточность / Л. И. Ольбинская, П. Ф. Литвицкий. – М.: Медицина, 1986. – 272 с.
4. Амосова Е. Н. Метаболическая терапия повреждения миокарда, обусловленного ишемией. Новый подход к лечению ишемической болезни сердца и сердечной недостаточности / Амосова Е. Н. // Укр. кардиол. журн. – 2000. – № 4. – С. 86–92.
5. Aruoma O. Molecular Biology of Free Radicals in Human Diseases / Aruoma O., Halliwell B. – St. Lucia, London : OCIA Int., 1999. – 345 p.
6. Сыркин А. Л. Антиишемические препараты метаболического действия / Сыркин А. Л., Добровольский А. В. // Concilium-Medicum. – 2002. – Т. 4, № 11. – С. 9–12.
7. Кардиопротекторы — клинико-фармакологические аспекты / Чекман И. С., Горчакова Н. А., Французова С. Б. [и др.] // Укр. медичний журн. – 2003. – № 6 (38). – С. 18–25.

8. Тиотриазолин, тиодарон в лечении сердечно-сосудистой патологии [Мазур И. А., Волошин Н. А., Визир В. А., Беленичев И. Ф.]. – Запорожье : Печатный мир, 2011. – 303 с.
9. Мазур И. А. Метаболитотропные препараты / И. А. Мазур, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев. – Запорожье, 2007. – 309 с.
10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая: под редакцией А. Н. Миронова. – М. : ФГБУ «НЦЭСМП», 2012. – 944 с.
11. Воронина Т. А. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Т. А. Воронина, С. Б. Серединин. – М. : ЗАО ИИА Ремедиум, 2002. – 320 с.
12. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств / А. В. Стефанов. – К. : Авиценна, 2002. – 568 с.
13. Науково-методичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : ВД «Авіцена», 2002. – 156 с.
14. Прохорова М. А. Современные методы в биохимии / М. А. Прохорова. – Л. : Изд-во ЛГУ, 1986. – 368 с.
15. Беленичев И. Ф. Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідях *in vitro* / Беленичев И. Ф., Губський Ю. І., Дунаєв В. В. //Метод. рекомен. – К. : ДФЦ МОЗ України, 2002. – 26 с.
16. Halliwell B. Free radicals in biology and medicine / B. Halliwell, M. C. Gutteridge. – Oxford : Claredon Press, 1985. – 347 p.
17. Handbook of Biochemistry and Molecular Biology, Fourth Edition / Roger L. Lundblad, Fiona Macdonald. – CRC Press, 2010. – 1098 p.

М. О. Щербак, І. Ф. Беленичев, А. В. Абрамов, Н. В. Бухтіярова, С. А. Моргунцова, С. В. Павлов, А. Г. Каплаушенко

Дослідження кардіопротекторної активності 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну

Синтез похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолів, вивчення їхніх хімічних властивостей і біологічної дії викликають великий інтерес як зарубіжних, так і вітчизняних учених, головним чином, завдяки наявності цілого ряду цінних властивостей. У зв'язку з цим вивчення біологічної активності нових похідних 1,2,4-тріазолів є актуальним питанням сучасної медицини та фармації й має теоретичну та практичну значимість.

Нами, на підставі попереднього широкого вивчення біологічної активності ряду 3-алкілтіо(сульфо)-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів, відібрано найактивнішу сполуку, а саме 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-амін. Для цієї сполуки проведено поглиблене дослідження кардіопротекторної дії на моделі гострого інфаркту міокарда в щурів.

У тварин з моделюваним інфарктом міокарда спостерігали пригнічення активності ГПР і підвищення рівня маркерів окиснювальної модифікації білка АФГ і КФГ у міокарді. Значний антиоксидантний ефект проявлявся підвищенням активності ГПР та зниженням маркерних продуктів – АФГ та КФГ у цитозолі міокарда як під час введення 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну, так і мілдронату. За ступенем зменшення вмісту маркера ОМБ – КФГ 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-амін мав перевагу над мілдронатом.

Результати проведених досліджень показують, що 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-амін перевищує препарат порівняння за кардіопротекторною дією.

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, інфаркт міокарда, кардіопротекторна активність

М. А. Щербак, И. Ф. Беленичев, А. В. Абрамов, Н. В. Бухтиярова, С. А. Моргунцова, С. В. Павлов, А. Г. Каплаушенко

Исследование кардиопротекторной активности 3-(4-нитрофенил)-5-(нонилсульфонил)-1,2,4-триазол-4-амин

Синтез производных 3-тио-1,2,4-триазолов, изучение их химических свойств и биологического действия вызывают большой интерес как зарубежных, так и отечественных ученых, главным образом, благодаря наличию ряда ценных свойств. В связи с этим изучение реакционной способности и зависимости биологической активности от строения новых производных 1,2,4-триазола является актуальным вопросом современной медицины и фармации, а также имеет теоретическую и практическую значимость.

На основании предварительного широкого изучения биологической активности ряда 3-алкилтио(сульфо)-5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-4-амино-1,2,4-триазолов было отобрано наиболее активное соединение, а именно 3-(4-нитрофенил)-5-(нонилсульфонил)-1,2,4-триазол-4-амин. Для этого соединения проведены углубленные исследования его кардиопротекторного действия на модели острого инфаркта миокарда у крыс.

У животных с моделированным инфарктом миокарда наблюдалось угнетение активности ГПР и увеличение уровня маркеров окислительной модификации белка АФГ и КФГ в миокарде. Значи-

тельный антиоксидантный эффект проявлялся повышением активности ГПР и снижением маркерных продуктов - АФГ и КФГ в цитозоле миокарда как при введении 3-(4-нитрофенил)-5-(нонилсульфонил)-1,2,4-триазол-4-амин, так и милдроната. По степени снижения маркера ОМБ – КФГ 3-(4-нитрофенил)-5-(нонилсульфонил)-1,2,4-триазол-4-амин превосходил милдронат.

Результаты проведенных исследований показывают, что 3-(4-нитрофенил)-5-(нонилсульфонил)-1,2,4-триазол-4-амин превышает препарат сравнения по кардиопротективной активности.

Ключевые слова: 1,2,4-триазол, инфаркт миокарда, кардиопротекторная активность

**M. O. Shcherbak, I. F. Belenichev, A. V. Abramov, N. V. Bukhtiyarova,
S. A. Morguntsova, S. V. Pavlov, A. G. Kaplaushenko**

The research of cardioprotective activity of 3-(4-nitrophenyl)-5-(nonylsulfonyl)-1,2,4-triazole-4-amine

The synthesis of 3-thio-1,2,4-triazoles, the study of their chemical properties and biological activity cause great interest for both foreign and ukrainian scientists, mainly due to the presence of number of valuable properties. In this regard, the study of reactivity and biological activity, depending on the structure of new 1,2,4-triazole derivatives is an important problem of modern medicine and pharmacy and has theoretical and practical significance.

Based on previous extensive study of biological activity of 3-alkylthio(sulfo)-5- (2-, 3-, 4-nitrophenyl)-4-amino-1,2,4-triazoles the most active compound has been selected, namely 3-(4-nitrophenyl)-5-(nonylsulfonyl)-1,2,4-triazole-4-amine. In-depth studies of cardioprotective effect of synthesized compound on acute myocardial infarction model in rats have been performed.

The inhibition of GPO activity and increase in markers of oxidative modification of protein, AFG and DKH, in myocardium have been observed in simulation myocardial infarction. Significant antioxidant effect has been observed in the GPO activity increase and in decrease of AFG and DKH marker products in the cytosol both under of 3-(4-nitrophenyl)-5-(nonylsulfonyl)-1,2,4-triazole-4-amine and mildronat introductions. Moreover, 3-(4-nitrophenyl)-5-(nonylsulfonyl)-1,2,4-triazole-4-amine significantly exceeds mildronat.

The results of performed studies show that the cardioprotective effect of 3-(4-nitrophenyl)-5-(nonylsulfonyl)-1,2,4-triazole-4-amine is higher than of the reference drug.

Key words: 1,2,4-triazole, myocardial infarction, cardioprotective activity

Надійшла: 11.06.2014 р.

Контактна особа: Щербак Марина Олексіївна, асистент, кафедра фізикоїдної хімії, Запорізький державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя, 69035. Тел.: +38 0 612 33 61 97. Електронна пошта: malina_alekseevna@mail.ru

А. В. Гудзенко

Розробка ВЕРХ методики визначення ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти в лікарських засобах хвоща польового (*Equisetum arvense* L.)

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

Ключові слова: трава хвоща польового, ди-Е-кофеїл-мезовинна кислота, багатокомпонентні рослинні суміші, стандартизація, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ)

Протягом останніх років у світовій фітотерапії спостерігається тенденція до широкого використання багатокомпонентних лікарських засобів рослинного походження (БЛЗРП). Зокрема, на фармацевтичному ринку України зареєстровано більше 200 полікомпонентних фітозасобів [1, 2]. Проте питання стандартизації зазначених лікарських засобів є одними з найактуальніших для сучасної фармацевтичної хімії.

Одним з перспективних напрямів удосконалення процедури стандартизації БЛЗРП є використання так званих маркерних сполук, або маркерів – речовин, присутність яких характерна лише для окремої лікарської сировини [3, 4]. Упровадження методик якісного та кількісного аналізу, заснованих на використанні маркерів, має не лише велике практичне значення, але й наукову доцільність.

Однією з найпоширеніших складових, що застосовуються для виготовлення БЛЗРП, є трава хвоща польового, що успішно використовується в медичній практиці як у вигляді монопрепаратів, так і у вигляді складової частини БЛЗРП [1, 2, 5].

Виходячи з того, що за даними літератури до складу трави хвоща польового входить ди-Е-кофеїл-мезовинна кислота – сполука, яка є мажоритарним представником гідроксикоричних кислот у рослині [6–9], з широким спектром біологічної дії та міститься в дуже обмеженій кількості лікарських рослин, було вирішено

розглянути можливість використання саме цієї біологічно активної речовини (БАР) як маркера хвоща польового при стандартизації рослинних сумішей.

Мета дослідження – розробка підходів до якісної та кількісної стандартизації трави хвоща польового в рослинних сумішах за вмістом ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти.

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження були: трава хвоща польового в пачках по 50 г (виробник ЗАТ «Ліктрави»; серії: 40210, 81211, 10312, 20312); таблетки «Фітоліт» (виробник ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», м. Харків), порошок для зовнішнього застосування «Полігемостат» (виробник ТОВ «Технопарк-Центр» для ТОВ «Технобіофарм», Російська Федерація) та рослинний збір «Алвісан Нео» (виробник «ЛЕРОС с.р.о.», Чеська Республіка); модельні суміші, аналогічні за складом до вищезазначених лікарських засобів без додавання трави хвоща польового.

Екстракцію БАР з досліджуваних об'єктів проводили наступним чином:

1 г (точна наважка) подрібненої моносировини або 5 г (точна наважка) рослинної суміші або полікомпонентного фітопрепарату вносили в конічну колбу, обладнану зворотним холодильником, додавали 50 мл 50 % етилового спирту та витримували на киплячій водяній бані протягом 45 хв. Після цього екстракт охолоджували до кімнатної температури та фільтрували через фільтр «червона стрічка» у мірну колбу об'ємом 100 мл. Екстракцію проводили ще раз та доводили об'єм витягів до 100 мл 50 % етиловим спиртом. До 5 мл отриманого розчину додавали таку кількість води, щоб концентрація спирту становила 15 %, та пропускали отриманий зра-

зок крізь попередньо активований (метанол, 5 мл) та промитий 10 мл води патрон для твердо-фазної екстракції «Superclean lc-18 SPE Tubes 2 ml» (виробник фірма Supelco, США). Патрон промивали 10 мл 15 % етилового спирту. Пробу з патрона вимивали 10 мл метилового спирту. Отриманий аналіт концентрували випаровуванням до об'єму 5 мл та фільтрували через фільтр з діаметром пор 0,45 мкм.

Хроматографічне вивчення досліджуваних екстрактів та розчинів стандартних зразків проводили на хроматографі Shimadzu ser. 20, обладнаному діодно-матричним детектором, за таких умов:

колонка Phenomenex Luna C18(2) розміром 250 мм × 4,6 мм, розмір частинок 5 мкм; температура колонки – 35 °C; довжина хвилі детектування – 330 нм; швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв; об'єм проби, що вводили – 5 мкл;

рухома фаза: елюент А – 0,1 % розчин трифтороцтової кислоти в воді;

елюент Б – 0,1 % розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі.

На рисунку 1 представлено хроматограми розчину порівняння ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти (А) та екстракту хвоща польового (Б). Як можна бачити, час виходу піка ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти в зазначених вище умовах складає близько 26,3 хв. Даний пік присутній як на хроматограмі розчину порівняння ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти, так і на хроматограмі екстракту трави хвоща польового.

За розробленою методикою було проаналізовано траву хвоща польового (виробник ЗАТ «Ліктрави», м. Житомир) різних років випуску.

Уміст ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти в різних серіях трави хвоща польового наведено в таблиці 1. З даних таблиці 1 видно, що в усіх пробах було ідентифіковано та кількісно визначено ди-Е-кофеїл-мезовинну кислоту, уміст якої в досліджуваній сировині становить від $0,1841 \pm 0,0091$ до $0,3301 \pm 0,0173$ % у перерахунку на висушену сировину.

Для визначення можливості стандартизації хвоща польового в багатокомпонентних рослинних сумішах було вико-

Час хроматографування, хв	Елюент А, %	Елюент Б, %
0–5	95	5
5–35	95 → 75	5 → 25
35–40	75	25
40–60	75 → 50	25 → 50
60–65	50 → 20	50 → 80
65–70	20	80
70–85	95	5

При виконанні роботи використовували реактиви: ацетонітрил для градієнтного хроматографування та трифтороцтової кислоти («FLUKA», Німеччина); спирт етиловий ректифікований фармакопейної якості; воду бідистильовану.

Статистичну обробку отриманих даних проводили, використовуючи t-критерій Стьюдента [10].

Результати та їх обговорення. З використанням методу ВЕРХ було розроблено методику визначення ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти в рослинній сировині трави хвоща польового.

ристано наступні рослинні багатокомпонентні засоби: таблетки «Фітолїт» (виробник ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», м. Харків), порошок для зовнішнього застосування «Полігемостат» (виробник ТОВ «Технопарк-Центр» для ТОВ «Технобіофарм», Російська Федерація) та рослинний збір «Алвісан Нео» (виробник «ЛЕРОС с.р.о.», Чеська Республіка).

До складу таблеток «Фітолїт», окрім витягу з трави хвоща польового, входять також витяги з трави споришу, трави звіробою звичайного та амі зубної. До складу «Полігемостату», окрім

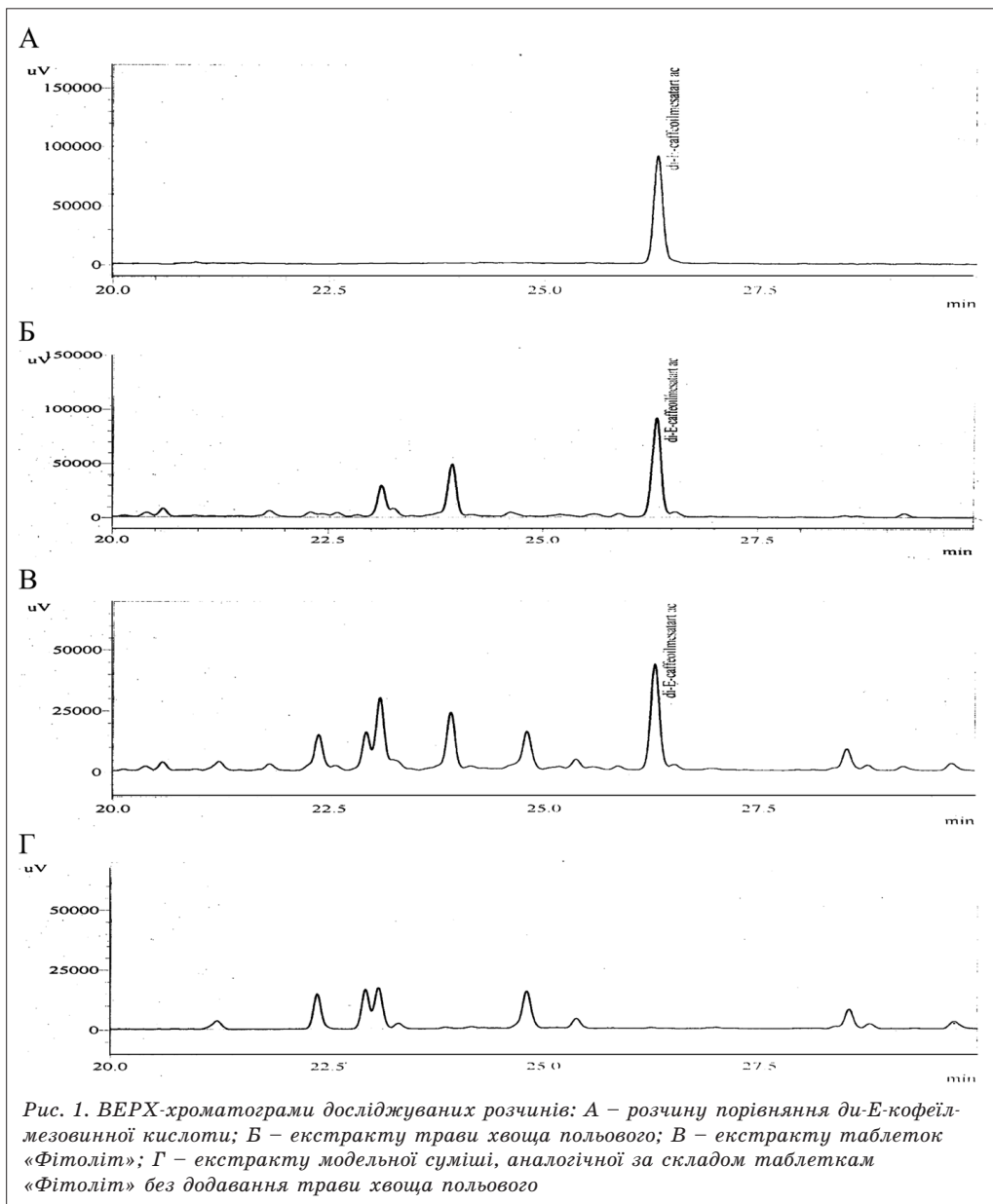


Рис. 1. ВЕРХ-хроматограми досліджуваних розчинів: А – розчину порівняння ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти; Б – екстракту трави хвоща польового; В – екстракту таблеток «Фітоліт»; Г – екстракту модельної суміші, аналогічної за складом таблеткам «Фітоліт» без додавання трави хвоща польового

витагу з трави хвоща польового, входять витяги з трави звіробою звичайного, трави деревію звичайного, листя кропиви дводомної, кори дуба та синтетичні речовини – хлоргексидин та кислота амінокапронова. До складу збору «Алвісан Нео», крім трави хвоща польового, входять також трава омели білої, трава звіробою звичайного, квітки та листя глоду, плоди глоду, листя м'яти перцевої, трава меліси лікарської, квітки ромашки аптечної.

У джерелах літератури дані про наявність ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти в

іншій сировині, що входить до складу досліджуваних лікарських засобів, крім хвоща польового, відсутні. З метою перевірки можливості стандартизації трави хвоща польового в досліджуваних лікарських засобах за наявності та вмістом ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти було вивчено можливість стандартизації трави хвоща польового в присутності кожного з компонентів, які входять до складу цих препаратів.

Згідно з одержаними даними, БАР жодного рослинного компонента зі складу досліджуваних препаратів не

**Уміст ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти в досліджуваних препаратах
трави хвоща польового**

Препарат хвоща польового	Виробник, № серії	Уміст ди-Е-кофеїл-ме-зовинної кислоти в перерахунку на абсо- лютно суху сировину, %
Трава хвоща польо- вого в пачці по 50 г	ЗАТ «Ліктрави», серія 40210	0,3301 ± 0,0173
Трава хвоща польо- вого в пачці по 50 г	ЗАТ «Ліктрави», серія 81211	0,1841 ± 0,0091
Трава хвоща польо- вого в пачці по 50 г	ЗАТ «Ліктрави», серія 10312	0,2027 ± 0,0105
Трава хвоща польо- вого в пачці по 50 г	ЗАТ «Ліктрави», серія 20312	0,1869 ± 0,0101

заважають ідентифікації та визначенню кількісного вмісту ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти за зазначеною раніше хроматографічною методикою.

Для підтвердження валідності розробленої методики було виготовлено модельну суміш, аналогічну за прописом таблеток «Фітоліт», але без додавання трави хвоща польового.

На рисунку 1 представлено хроматограми екстракту трави хвоща польового (Б), таблеток «Фітоліт» (В) та рослинної суміші, аналогічної за складом таблеткам «Фітоліт» без додавання трави хвоща польового (Г). На хроматограмах Б і В присутній пік ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти, на хроматограмі Г даний пік відсутній.

Таким чином, виходячи з отриманих даних, у таблетках «Фітоліт» є можливість визначати траву хвоща польового за наявністю та кількісним умістом ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти.

Також було виготовлено рослинні суміші, аналогічні за прописом порошку для зовнішнього застосування «Полігемостат» та збору «Алвісан Нео», але без додавання трави хвоща польового.

На рисунку 2 представлено хроматограми екстракту трави хвоща польового (А), порошку «Полігемостат» (Б) та рослинної суміші, до складу якої входять компоненти порошку «Полігемостат» без додавання хвоща польового (В). На хроматограмах А і Б присутній пік ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти, на хроматограмі В даний пік відсутній.

На підставі отриманих даних зроблено висновок, що в порошку для зовніш-

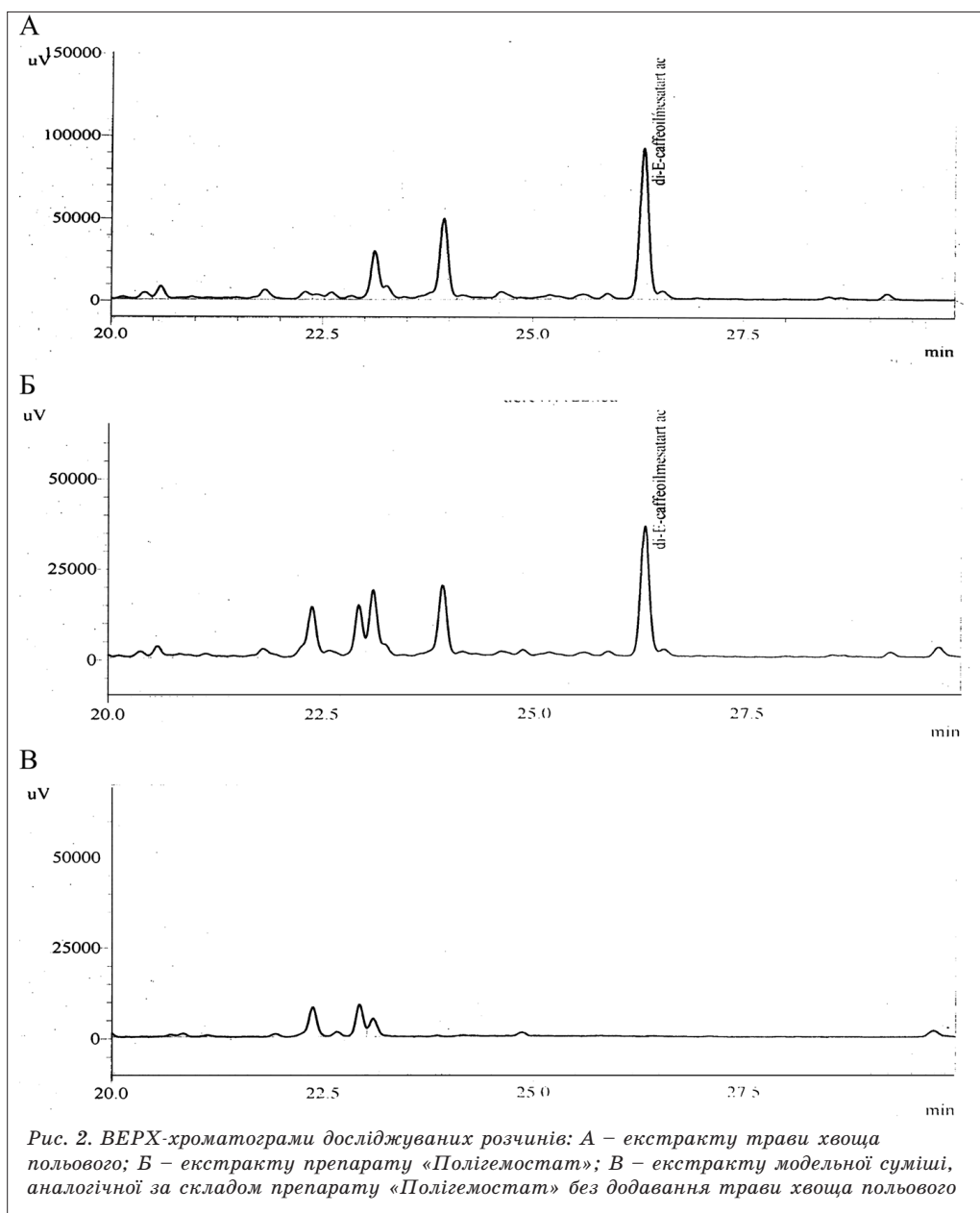
нього застосування «Полігемостат» траву хвоща польового можна визначати за наявністю та кількісним вмістом ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти.

У таблиці 2 представлено метрологічні характеристики методики кількісного визначення ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти в зборі «Полігемостат». Відносна похибка для 5 паралельних визначень, розрахована методом математичної статистики з надійністю $p = 0,95$, становить 4,53 %.

На рисунку 3 представлено хроматограми екстракту трави хвоща польового (А), збору «Алвісан Нео» (Б) та збору, до складу якого входять компоненти збору «Алвісан Нео» без додавання трави хвоща польового (В). На хроматограмах А і Б присутній пік ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти, на хроматограмі В даний пік відсутній.

На підставі отриманих даних зроблено висновок, що в зборі «Алвісан Нео» траву хвоща польового можна визначати за наявністю та кількісним вмістом ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти.

Підсумовуючи все вищезазначене, можна зробити висновок, що за наявністю та вмістом ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти траву хвоща польового можна стандартизувати в сумішах з такою рослинною сировиною: травою омели білої, травою звіробою звичайного, квіток та листя глоду, плодами глоду, травою м'яти перцевої, травою меліси лікарської, квітками ромашки аптечної, травою деревію звичайного, листями кропиви дводомної, корою дуба, травою споришу та плодами амі зубної.



Таблиця 2

Метрологічні характеристики методики кількісного визначення
ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти в рослинному зборі «Полігемостат»

Знайдено, %	$\bar{x}$	S	P	t (P, f)	ΔX_{cp}	ϵ , %
0,0145	0,01418	0,00052	0,95	2,78	0,000642	4,53
0,0139						
0,0149						
0,0136						
0,0140						

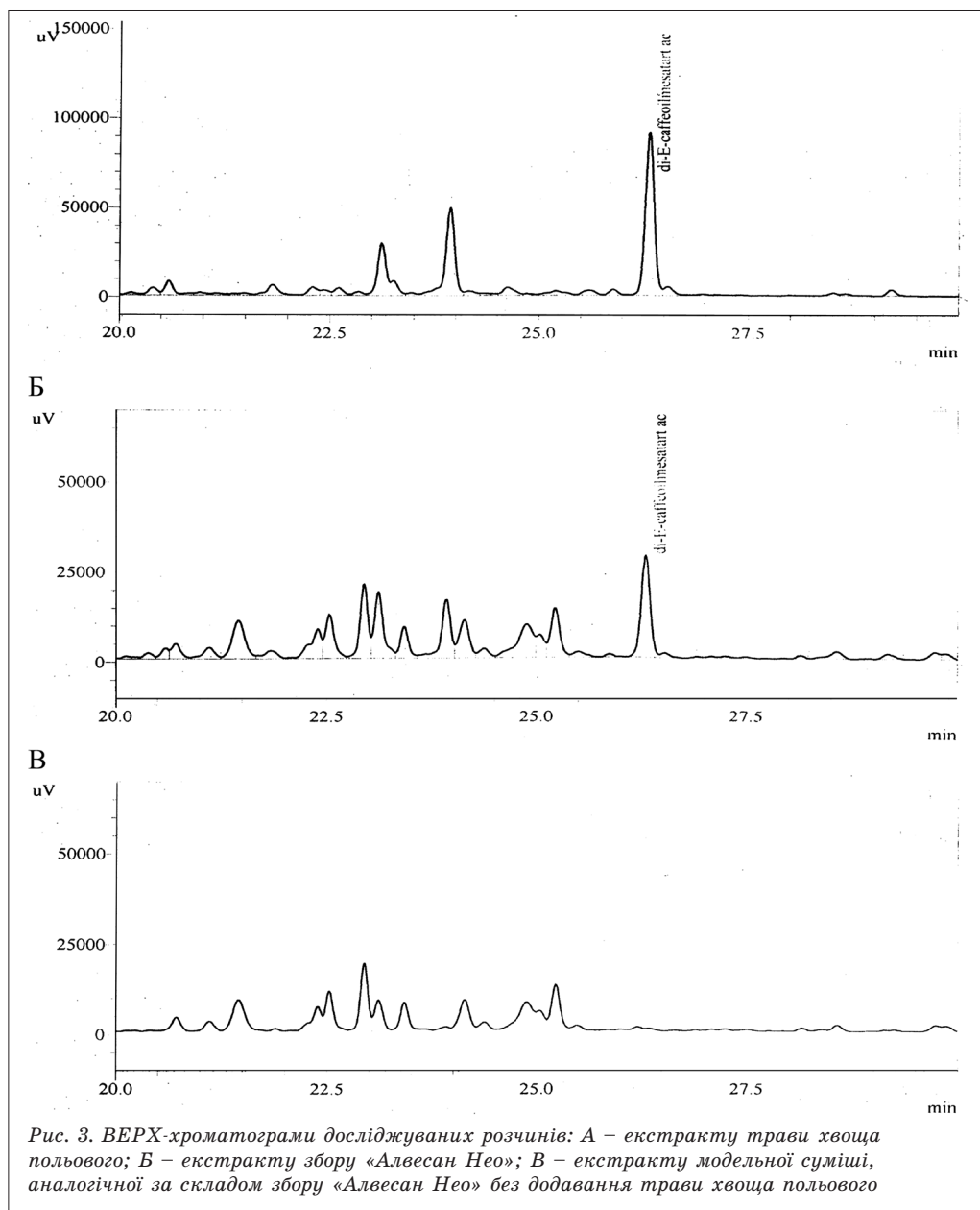


Рис. 3. ВЕРХ-хроматограми досліджуваних розчинів: А – екстракту трави хвоща польового; Б – екстракту збору «Алвесан Нео»; В – екстракту модельної суміші, аналогічної за складом збору «Алвесан Нео» без додавання трави хвоща польового

Висновки

1. Розроблено ВЕРХ методику визначення ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти в моно- та багатокомпонентних фіто-препаратах трави хвоща польового.

2. За розробленою методикою було проаналізовано різні серії препаратів трави хвоща польового виробництва ЗАТ «Ліктрави». У всіх пробах було ідентифіковано та кількісно визначено ди-Е-кофеїл-мезовинну кислоту, уміст якої в досліджуваній сировині коливається в межах від $0,1841 \pm 0,0091$ до

$0,3301 \pm 0,0173$ % у перерахунку на висушену сировину.

3. Як моделі для перевірки можливості стандартизації трави хвоща польового в рослинних сумішах було досліджено зареєстровані в Україні препарати: таблетки «Фітолїт, порошок для зовнішнього застосування «Полігемостат» та рослинний збір «Алвісан Нео». Встановлено, що за наявності та вмістом ди-Е-кофеїл-мезовинної кислоти можлива стандартизація хвоща польового в присутності БАР 10 рослинних компонентів.

1. Довідник лікарських засобів, зареєстрованих в Україні станом на 01.01.2014. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: www.Pharma-center.kiev.ua.
2. Справочник «Компедиум-2011 – лекарственные препараты» / Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. – К. : Морион, 2011. – 2270 с.
3. Гудзенко А. В. Реалізація сучасних підходів до стандартизації полікомпонентних фітопрепаратів / А. В. Гудзенко, О. О. Цуркан, Т. В. Ковальчук // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 5 (30). – С. 99–106.
4. Гудзенко А. В. Використання речовин-маркерів – сучасний підхід до стандартизації багатокомпонентних лікарських засобів рослинного походження / А. В. Гудзенко, О. О. Цуркан, Т. В. Ковальчук // Фармацевтичний журнал. – 2011. – № 5. – С. 87–91.
5. Бузук Г. Н. Фармакогностическая характеристика хвоща полевого *Equisetum arvense* L. / Бузук Г. Н. // Вестник фармации. – 2010. – № 2. – С. 65–73.
6. Phenolic compounds in field horsetail (*Equisetum arvense* L.) as natural antioxidants / N. Mimica-Dukic, N. Simin, J. Cvejic [et al.] // Molecules. – 2008. – V. 13. – P. 1455–1464.
7. Di-E-caffeoyl-meso-tartaric acid in the barren sprouts of *Equisetum arvense* / D. Strack, F. C. Czygan, V. Wray, L. Witte // Phytochemistry. – 1991. – V. 30. – P. 527–529.
8. Hohlfeld M. Hydroxycinnamoyltransferases Involved in the Accumulation of Caffeic Acid Esters in Gametophytes and Sporophytes of *Equisetum arvense* / M. Hohlfeld, M. Veit, D. Strack // Plant. Physiol. – 1996. – V. 111. – P. 1153–1159.
9. Interspecific and intraspecific variation of phenolics in the genus *Equisetum* subgenus *Equisetum* / M. Veit, C. Beckert, C. Höhne [et al.] // Phytochemistry. – 1995. – V. 38. – P. 881–891.
10. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2000. – 320 с.

А. В. Гудзенко

Разработка ВЭЖХ методики определения ди-Е-кофеил-мезовинной кислоты в лекарственных средствах травы хвоща полевого (*Equisetum arvense* L)

Определен маркер по наличию и количественному содержанию которого возможна качественная и количественная стандартизация травы хвоща полевого в растительных смесях. В качестве маркера хвоща полевого может использоваться ди-Е-кофеил-мезовинная кислота. С использованием метода ВЭЖХ разработана методика анализа ди-Е-кофеил-мезовинной кислоты в моно- и поликомпонентных лекарственных средствах растительного происхождения, в состав которых входит трава хвоща полевого. С использованием разработанной методики произведен анализ моно- и поликомпонентных фитопрепаратов, в состав которых входит трава хвоща полевого.

В результате проведенного анализа показано, что содержание ди-Е-кофеил-мезовинной кислоты в траве хвоща полевого лежит в пределах от $0,1841 \pm 0,0091\%$ до $0,3301 \pm 0,0173\%$ в пересчете на сухое сырье. Доказано, что по наличию и содержанию ди-Е-кофеил-мезовинной кислоты траву хвоща полевого можно стандартизировать в смесях со следующим растительным сырьем: травой омелы белой, травой зверобоя продырявленного, цветками, листьями и плодами боярышника, травой мяты перечной, травой Melissa лекарственной и цветками ромашки лекарственной, плодами амми зубной, травой тысячелистника обыкновенного, листьями крапивы двудомной и корой дуба.

Ключевые слова: трава хвоща полевого; ди-Е-кофеил-мезовинная кислота, поликомпонентные растительные смеси, стандартизация, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

А. V. Gudzenko

Development HPLC method of di-E-caffeoyl-meso-tartaric acid determination in multicomponent herbal remedies of *Equisetum arvense* L.

It was determined the marker for qualitative and quantitative standardization of *Equisetum arvense* L. herb in the plant mixtures. As a marker of *Equisetum arvense* L. herb can be used di-E-caffeoyl-meso-tartaric acid. The HPLC method for the analysis of di-E-caffeoyl-meso-tartaric acid in mono preparations and multicomponent herbal remedies of *Equisetum arvense* L. herb was developed and mono- and multicomponent herbal remedies of *Equisetum arvense* L. herb were analyzed. The analysis shows, that the content of di-E-caffeoyl-meso-tartaric acid in raw plant is between $0,1841 \pm 0,0091$ to $0,3301 \pm 0,0173\%$ in terms of the dried materials. It is shown, that the presence and content of di-E-caffeoyl-meso-tartaric acid *Equisetum arvense* L. herb can be standardized in the mixtures with the following plant: herb of *Viscum album* L., grass of *Hypericum perforatum* L., flowers, leaves and fruits of genus *Crataegus* L., herb of *Mentha piperita* L., herb of *Melissa officinalis* L., flowers *Matricaria chamomilla* L., fruits of *Ammi visnaga* (L.) Lam., herb of *Achillea millefolium* L., leaves of *Urtica dioica* L. and bark *Quercus robur* L.

Key words: *Equisetum arvense* L. herb, di-E-caffeoyl-meso-tartaric acid, multicomponent plant composition, standardization, HPLC

Надійшла: 03.06.2014 р.

Контактна особа: Гудзенко Андрій Вікторович, канд. фарм. наук, провідний науковий співробітник, Державна лабораторія з контролю якості лікарських засобів,

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потье, м. Київ, 03680.
Тел.: +38 0 44 277 41 18. Електронна пошта: ganvi@yandex.ru

В. Й. Кресюн¹, В. В. Філюк², П. Б. Антоненко¹,
Ю. М. Даниленко², Г. В. Мозолевич²

Поліморфізм генотипу цитохрому Р-450 2Е1 у хворих на туберкульоз

¹Одеський національний медичний університет

²Одеський обласний протитуберкульозний диспансер

Ключові слова: цитохрому Р-450 2Е1,
ген CYP2E1, поліморфізм, генотип,
туберкульоз

Відомо, що ефективність лікування багатьох захворювань, їхній перебіг та наслідки значною мірою залежать від генетичних особливостей людини, зокрема, поліморфізму генів детоксикації ксенобіотиків [1, 2]. Серед останніх є ген цитохрому Р-450 2Е1 (CYP2E1) – ферменту, який бере участь у метаболізмі найефективнішого протитуберкульозного препарату ізоніазиду [2].

Ген Р-450 2Е1 (CYP2E1) складається з 9 екзонів і відповідає за кодування одного з ферментів великої родини P450, що бере участь у метаболізмі ліків і асоціюється з ризиком раку печінки [3]. Як один з ключових ферментів, що метаболізує алкоголь й індукується алкоголем, CYP2E1 відповідає за метаболічну активацію канцерогенних N-нітрозамінів, поліциклічних ароматичних вуглеводів та інших низькомолекулярних сполук. Також відомо про зв'язок між генотипом CYP2E1*1A/*1A та розвитком гепатотоксичності таких протитуберкульозних препаратів, як ізоніазид, рифампіцин, піразинамід [4].

Це стосується, головним чином, поліморфізму 5'-фланкуючого регіону, який вивчають за допомогою ендонуклеаз PstI і RsaI (CYP2E1*5) [5]. Водночас дуже мало інформації щодо поліморфізму в 6-му інтроні, який досліджують за допомогою ендонуклеази DraI.

Крім міжетнічних відмінностей щодо поліморфізму генів біотрансформації ліків, можуть мати місце особливості генетичного розмаїття в певних категорій хворих, зокрема, хворих на тубер-

кульоз, що в подальшому буде впливати на ефективність і безпечність лікування. Попередньо було показано, що є певні особливості в поліморфізмі гена іншого ферменту, що впливає на біотрансформацію протитуберкульозних препаратів – N-ацетилтрансферази 2 [6]. Водночас даних щодо поліморфізму CYP2E1, зокрема, 6-го нітрону, у хворих на туберкульоз практично відсутні. *Мета дослідження* – вивчення поліморфізму CYP2E1 у хворих на туберкульоз легень як основи для прогнозування ефективності та токсичності протитуберкульозних лікарських засобів.

Матеріали та методи. Було проведено аналіз статистичних даних 86 хворих на туберкульоз легень, що вперше діагностовано, на початку стаціонарного лікування в Одеському обласному протитуберкульозному диспансері в 2012 році, з яких 40 (46,5 %) становили жінки, 46 (53,5%) – чоловіки. Вік хворих становив від 18 до 73 років (середній вік – 35,9 років). Для контролю використовували зразки крові, що були отримані від 112 здорових донорів в Одеській обласній станції переливання крові в 2010–2011 роках, з яких 50 (44,6 %) становили жінки, 62 (55,4%) – чоловіки. Вік донорів становив від 17 до 62 років (середній вік – 33,8 років).

Генотип CYP2E1 у хворих на туберкульоз і здорових донорів було визначено наступним чином. ДНК матеріал був екстрагований з крові з використанням набору ДНК-сорбБ (АмпліСенс, Російська Федерація). Визначення генотипу CYP2E1 було проведено за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) і ендонуклеазного аналізу [7,8]. Для цього визначали наявність мутації в 6-му інтроні і 5-му фланкуючому регіоні за

допомогою відповідних ендонуклеаз DraI and RsaI. Дослідження були проведені з дотриманням норм біоетики (Протокол засідання комісії біоетики ОНМедУ від 11.02.2011 р. № 188). Обрахунок статистичних даних проводили за допомогою Microsoft Excel і χ^2 -критерію, програми «Primer Biostatistica».

Результати та їх обговорення. Відповідно до генотипу CYP2E1 з 86 пацієнтів 84 (97,7 %) не мали мутацій у '5-фланкуючому регіоні (генотип c1/c1), 2 (2,3 %) мали одну мутовану алель (генотип c1/c2). Стосовно інтрона 6 – більшість хворих, а саме 74 (86,0 %), не мали мутацій у цій ділянці (генотип DD), 11 хворих (12,8 %) мали одну мутовану алель (генотип CD), 1 хворий (1,2 %) мав обидві мутовані алелі (генотип CC). Обидва хворих з мутацією в '5-фланкуючому регіоні, також мали мутацію в 6-му інтроні. У подальшому для зручності ми виділили окремо групу хворих, які не мали мутацій у 6-му інтроні (генотип DD), і групу хворих, які мали мутації в указаному локусі (генотипи CD, CC). При завершенні стаціонарного лікування в двох хворих з генотипом CD, CC (16,7 %) було знято діагноз туберкульозу легень і встановлено діагноз раку легень. Серед хворих з генотипом DD не було встановлено жодного випадку раку легень, тобто генотип CD, CC частіше асоціювався з розвитком раку легень, ніж генотип DD ($P < 0,05$; $\chi^2 = 14,63$ при критичному значенні в даному випадку й далі 3,84). Також у одного хворого кожної з груп діагноз туберкульозу легень було замі-

нено на діагноз пневмонії. Отже, наприкінці стаціонарного лікування діагноз туберкульозу легень залишився в 73 хворих з генотипом DD і 9 хворих з генотипом CD, CC. Саме медичні карти цих хворих були залучені для подальшої статистичної обробки (табл. 1).

Серед 82 хворих, у яких у подальшому було підтверджено діагноз туберкульозу відповідно до генотипу CYP2E1, 89,0 % індивідів були носіями генотипу DD (табл. 1, 2). Також 9,8 % і 1,2 % хворих були носіями генотипів CD і CC.

Серед здорових донорів частіше зустрічалися носії гетерозиготного типу гену CYP2E1*C/*D – 17,9 %, водночас рідше зустрічалися носії генотипу CYP2E1*D/*D – 82,1 %, ніж у хворих на туберкульоз. Також у здорових донорів були відсутні носії генотипу CC. При порівнянні поширеності генотипу CYP2E1 серед здорових донорів і хворих на туберкульоз відзначали меншу частку носіїв генотипів, що відповідали за повільний тип метаболізму, серед хворих на туберкульоз (11,0 % проти 17,9 %).

Загалом, із досліджених 164 алелів CYP2E1 93,9 % складала алель D і 6,1 % – алель C. Серед здорових донорів 91,1 % складала алель D і 8,9 % – алель C. Отже, суттєвих відмінностей у поліморфізмі CYP2E1 між хворими на туберкульоз і здоровими донорами не було зафіксовано.

Згідно з даними літератури індивіди з генотипом CYP2E1*DD відрізняються більш швидкою біотрансформацією ксенобіотиків у печінці, ніж індивіди з

Таблиця 1

Генотип і алелі гена CYP2E1 у хворих на туберкульоз (кількість)

Генотип (n = 82)		
CD	CC	0,1841 ± 0,0091
8	1	0,2027 ± 0,0105
Алель (n = 164)		
CYP2E1*D	CYP2E1*C	
154	10	

Таблиця 2

Поширеність генотипів CYP2E1 у здорових донорів і хворих на туберкульоз (%)

Результати	Генотип CYP2E1		
	DD	CD	CC
Здорові донори	82,1	17,9	-
Хворі на туберкульоз	89,0	9,8	1,2

генотипами *CD і *CC [9]. Отже, генотипи CYP2E1*CD і *CC відзначалися найбільшим зниженням ферментної активності, тому умовно носіїв вищезгаданих генотипів можна віднести до повільних метаболізаторів.

Серед хворих на туберкульоз як чоловічої, так і жіночої статі більшість, а саме 88,9 %, складали носії гомозиготного типу дикого гена CYP2E1*DD (рис. 1). Носії мутантних алелей з генотипами CD і CC складали 11,1 % незалежно від статі. Серед здорових донорів як чоловічої, так і жіночої статі носії генотипу DD складали більшість, а саме 83,9 % і 70,0 % відповідно, 16,1 % і 30,0 % – складали носії генотипу CD. Таким чином, вірогідної різниці між хворими на туберкульоз і здоровими донорами щодо поліморфізму CYP2E1 за гендерною ознакою не виявлено. Отже, відзначалася більша поширеність генотипів, що відповідають за повільний тип метаболізму (генотип CD), серед хворих і здорових донорів жіночої статі ($p > 0,05$) (рис. 1). Серед здорових донорів найчастіше мутовану алель С спостерігали у представників жіночої статі (15,4 %) і дещо менше – чоловічої статі (8,1 %). Серед хворих на туберкульоз чоловічої та жіночої статі мутовану алель С спостерігали в 6,7 % і 5,6 % відповідно. У решті випадків здорові донори та хворі на туберкульоз були носіями дикої алелі D.

При дослідженні поширеності різних генотипів CYP2E1 з урахуванням вікових відмінностей було встановлено наступне. Серед хворих на туберкульоз з генотипом DD найбільша кількість

(38,4 %) – у віці 21–30 років, найнижча (8,2 %) – у віці до 20 років (рис. 2). До інших вікових груп належало близько 16–19 % хворих. У групі хворих з генотипами CD і CC значну більшість, а саме 88,9 %, становили пацієнти віком 21–30 років, решта (1,1 %) – пацієнти 31–40 років. Тобто, хворі на туберкульоз з генотипами CD і CC у 2,3 разу частіше належали до вікової групи 21–30 років, ніж носії генотипу DD ($P < 0,05$; $\chi^2 = 8,31$). При розподілі хворих на дві групи – до 30 років і після 30 років було встановлено: у першій віковій групі хворі з генотипами CD і CC склали 23,5 %, у другій – 2,5 % (рис. 3). Тобто пацієнти з вищевказаним генотипом майже в 9,4 разу частіше мали вік до 30 років, ніж після 30 років ($P < 0,05$; $\chi^2 = 5,74$). При вивченні групи хворих з генотипом DD встановлено, що більшість пацієнтів жіночої статі були віком до 30 років (62,5 %), водночас більшість чоловіків – віком понад 30 років (67,5 %). Отже, хворі з генотипом DD чоловічої статі в 1,8 разу частіше належали до вікової групи понад 30 років, ніж хворі жіночої статі ($P < 0,05$; $\chi^2 = 6,44$).

Серед хворих на туберкульоз до 30 років була більша кількість носіїв мутантної алелі С, ніж серед хворих віком після 30 років (11,0 % проти 1,3 %, $P < 0,05$; $\chi^2 = 6,61$) (рис. 3). Водночас у контрольній групі це співвідношення складало 10,2 % проти 7,9 %. Отже, як у здорових донорів, так і у хворих на ТБ після 30 років спостерігали певне зменшення пошире-

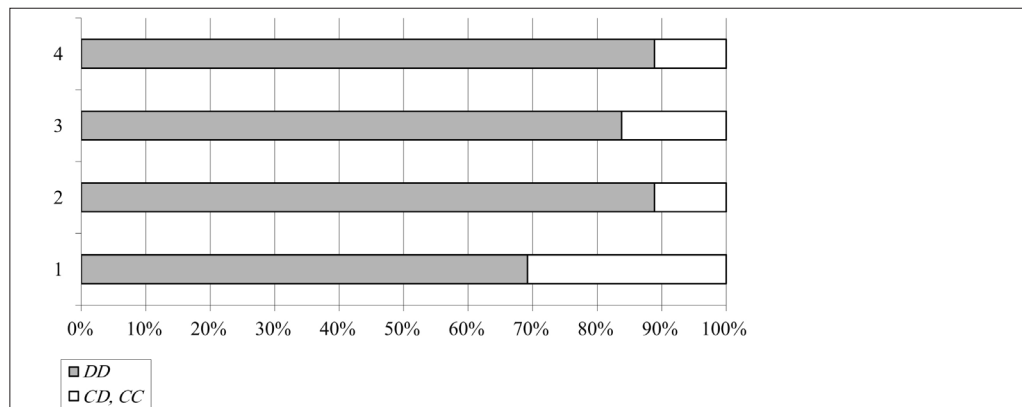
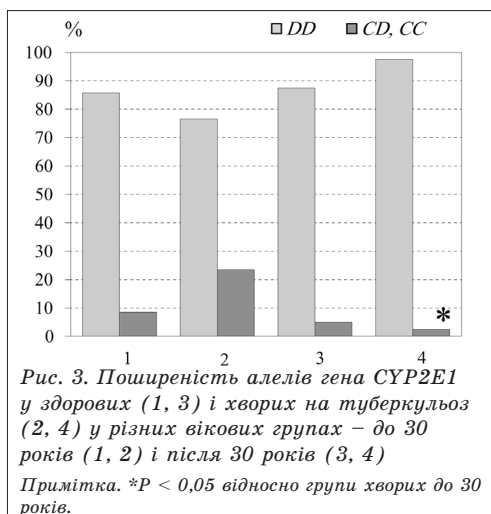
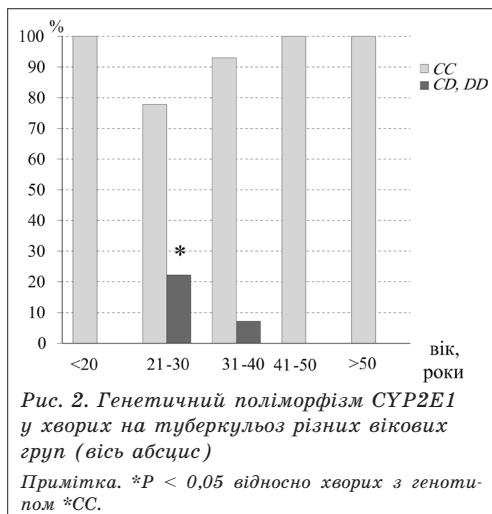


Рис. 1. Поширення генетичного поліморфізму гена CYP2E1 у здорових донорів жіночої (1) або чоловічої статі (3) та хворих на туберкульоз жіночої (2) або чоловічої статі (4)



ності мутантної алелі С, причому у хворих після 30 років мутантну алель спостерігали в 6,3 разу рідше, ніж у здорових донорів тієї самої вікової групи ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,33$).

Проведений аналіз засвідчив, що здорові донори частіше були носіями мутантних алелів і генотипу гетерозигот, рідше – носіями дикої алелі та генотипу DD, ніж хворі на туберкульоз легень. Повільні метаболізатори частіше спостерігалися серед здорових жінок, ніж чоловіків тієї самої групи. Також відзначали певне зростання кількості носіїв генотипу CYP2E1*DD у хворих на туберкульоз і здорових донорів зі збільшенням віку. Зокрема, паці-

єнти з генотипами CD і CC майже в 9,4 разу частіше мали вік до 30 років, ніж після 30 років. Серед здорових донорів відмінностей у поліморфізмі CYP2E1 серед різних вікових груп не відзначали.

Отже, можна зробити висновок, що в дослідженій групі хворих на туберкульоз віком понад 30 років більш поширений генотип DD, що може асоціюватися з більшою гепатотоксичністю протитуберкульозних препаратів у цієї категорії хворих. Отримані результати свідчать про доцільність визначення генотипу CYP2E1 у хворих на туберкульоз з метою підбору більш безпечних режимів застосування протитуберкульозних препаратів.

1. Ramachandran Geetha Role of pharmacogenomics in the treatment of tuberculosis: a review / Geetha Ramachandran, Soumya Swaminathan // Pharmacogenomics and Personalized Medicine. – 2012. – № 5. – P. 89–98.
2. Cytochrome P450 and NAT2 polymorphisms and drug metabolism in DOTS / Mde J. Castillejos-López, M. C. García-Sancho, F. Quiñones-Falconi, J. R. Pérez-Padilla. – Rev. Invest. Clin. – 2008. – V. 60, № 1. – P. 47–57.
3. CYP2E1 RsaI/PstI polymorphism and liver cancer risk among East Asians: a huge review and meta-analysis (review) / Zhong Tian, Yi-Ling Li, Lin Zhao, Chen-Liang Zhang // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. – 2012. – V. 13, № 10. – P. 4915–4921.
4. Huang Y. S. Recent progress in genetic variation and risk of antituberculosis drug-induced liver injury (review) / Y. S. Huang // J. Chin. Med. Assoc. – 2014. – V. 77, № 4. – P. 169–173.
5. CYP2E1 RsaI/PstI polymorphism and risk of anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis / R. Deng, T. Yang, Y. Wang, N. Tang // Int. J. Tuberc. Lung. Dis. – 2012. – V. 16 (12). – P. 1574–81.
6. Антоненко П. Б. Поліморфізм генотипу N-ацетилтрансферази 2 серед хворих на туберкульоз / В. Й. Кресюн, П. Б. Антоненко // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 51–55.
7. Susceptibility to esophageal cancer and genetic polymorphisms in glutathione-S-transferases T1, P1 and cytochrome P450 2E1 / Dong-Xin Lin, Yong-Ming Tang, Qiong Peng [et al.] // Cancer epidemiology, biomarkers and prevention. – 1998. – V. 7. – P. 1013–1018.
8. Cytochrome P4502E1 genetic polymorphisms, racial variation, and lung cancer risk / Shunji Kato, Peter G. Shields, Neil E. Caporaso [et al.] // Cancer research. – 1992. – V. 52. – P. 6712–6715.
9. Кресюн В. И. Фармакогенетические основы взаимодействия организма и лекарств / В. И. Кресюн, Ю. И. Бажора. – Одесса: Одес. гос. мед. ун-т, 2007. – 164 с.

В. Й. Кресюн, В. В. Філюк, П. Б. Антоненко, Ю. М. Даниленко, Г. В. Мозолевиц
Поліморфізм генотипу цитохрому P-450 2E1 у хворих на туберкульоз

Відомо, що ефективність лікування багатьох захворювань, у тому числі туберкульозу, залежить від генетичних особливостей людини, зокрема, від поліморфізму генів детоксикації ксенобіотиків.

Мета дослідження – вивчення поліморфізму гена P-450 2E1 (CYP2E1) у хворих на туберкульоз легень як основи для прогнозування ефективності та токсичності протитуберкульозних лікарських засобів. Для цього визначали наявність мутації в 6-му інтроні CYP2E1 за допомогою ферменту ендонуклеази DraI і полімеразно ланцюгової реакції в 112 здорових донорів і 82 хворих на туберкульоз легень, що вперше діагностовано. Серед хворих 89,0 % індивідів були носіями генотипу DD; 9,8 % і 1,2 % хворих – носіями генотипів CD і CC. Серед здорових донорів носії генотипу *CD склали 17,9 %, генотипу *DD – 82,1 %. Серед хворих на туберкульоз, як чоловічої, так і жіночої статі, 88,9 % склали носії типу дикого гена *DD; серед здорових донорів, як чоловічої, так і жіночої статі, носії генотипу DD склали 83,9 % і 70,0 % відповідно. Серед хворих до 30 років носії з генотипами CD і CC склали 23,5 %, після 30 років – 2,5 %, тобто пацієнти з генотипами CD і CC майже в 9,4 рази частіше мали вік до 30 років, ніж після 30 років ($P < 0,05$). Серед здорових донорів після 30 років також спостерігали зменшення поширеності мутантної алелі C, причому у хворих після 30 років мутантну алель спостерігали в 6,3 рази рідше, ніж у здорових донорів ($P < 0,05$).

Отже, у хворих на туберкульоз в віком понад 30 років більш поширений генотип DD, що може асоціюватися з більшою гепатотоксичністю протитуберкульозних препаратів у цієї категорії хворих.

Ключові слова: цитохром P-450 2E1, ген CYP2E1, поліморфізм, генотип, туберкульоз

В. И. Кресюн, В. В. Филук, П. Б. Антоненко, Ю. Н. Даниленко, Г. В. Мозолевиц
Полиморфизм генотипа цитохрома P-450 2E1 у больных туберкулезом

Известно, что эффективность лечения многих заболеваний, в том числе и туберкулеза, зависит от генетических особенностей человека, в частности, от полиморфизма генов детоксикации ксенобиотиков.

Цель исследования – изучение полиморфизма гена P-450 2E1 (CYP2E1) у больных туберкулезом легких, как основы для прогнозирования эффективности и токсичности противотуберкулезных лекарственных средств.

Для этого определяли наличие мутации в 6-м интроне CYP2E1 с помощью фермента эндонуклеазы DraI и полимеразно-цепной реакции у 112 здоровых доноров и 82 больных с впервые диагностированным туберкулезом легких. Среди больных 89,0 % индивидов были носителями генотипа DD; 9,8 % и 1,2 % – генотипов CD и CC. Среди здоровых доноров носители генотипа *CD составляли 17,9 %, генотипа *DD – 82,1 %. Среди больных туберкулезом обоих полов 88,9 % составляли носители дикого типа гена *DD. Среди здоровых доноров мужского и женского пола носители генотипа DD составляли 83,9 % и 70,0 % соответственно. Среди больных до 30 лет носители с генотипами CD и CC составили 23,5 %, после 30 лет – 2,5 %, то есть пациенты с генотипами CD и CC почти в 9,4 раза чаще были до 30 лет, чем после 30 лет ($P < 0,05$). Среди здоровых доноров старше 30 лет также отмечали снижение распространенности мутантной аллели C, причем у больных старше 30 лет мутантную аллель наблюдали в 6,3 раза реже, чем у здоровых доноров ($P < 0,05$).

Таким образом, у больных туберкулезом старше 30 лет более распространен генотип DD, что может ассоциироваться с большей гепатотоксичностью противотуберкулезных препаратов у этой категории больных.

Ключевые слова: цитохром P-450 2E1, ген CYP2E1, полиморфизм, генотип, туберкулез

V. I. Kresyun, V. V. Filuk, P. B. Antonenko, Yu. M. Danilenko, G. V. Mozolevich
Polymorphism of cytochrome P-450 2E1 genotype in patients with tuberculosis

It is known that effectiveness of the diseases treatment, including tuberculosis (TB), depends on genetic peculiarities of human, for instance from polymorphism of xenobiotics detoxification. That is why the aim of current research was an investigation of polymorphism of cytochrome P-450 2E1 (CYP2E1) in patients with TB as the base for forecasting of effectiveness and toxicity of antituberculosis agents. So, it was studied a presence of mutation in 6th intron CYP2E1 with the help of DraI endonuclease and polymerase chain reaction in 112 healthy donors and 82 patients with primary pulmonary TB. 89,0 % of patients carried DD genotype; 9,8 % and 1,2 % patients had CD and CC genotypes. 17,9 % of healthy donors carried *CD genotype, others – 82,1 % – had *DD genotype. Among TB-patients of male and female gender 88,9 % individuals carried wild type gene *DD; among healthy donors of male and female gender around 83,9 % and 70,0 % carried DD genotype correspondently. Among patients under 30 years 23,5 % of individuals had CD and CC genotype, after 30 years – 2,5 %, thus patients with CD and CC genotype almost 9,4 times more often were under 30 years, than after 30 years ($P < 0,05$). Among healthy donors older than 30 years one could see dropping of mutant allele C spreading, thus in patients above 30 years a mutated allele were in 6,3 times less common than in healthy donors ($P < 0,05$). Thus in TB patients especially after 30 years a genotype DD, which is associated with higher risk of hepatotoxicity of antituberculosis drugs, is more often.

Key words: cytochrome P-450 2E1, CYP2E1 gene, polymorphism, genotype, tuberculosis

Надійшла: 10.06.2014 р.

Контактна особа: Антоненко Петро Борисович, кандидат медичних наук, доцент, кафедра загальної та клінічної фармакології, Одеський національний медичний університет, буд. 2, Валіховський пров., м. Одеса, 65082. Тел.: + 38 0 48 71 23 103.
Електронна пошта: peterantonenko@yandex.ua

О. В. Макаренко¹, Д. С. Соломко²

Фармакоекономічна оцінка терапії алергічного риніту

¹ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

²КЗ «Дніпропетровська міська лікарня № 8 ДОР»

Ключові слова: алергічний риніт, фармакотерапія, антигістамінні засоби, фармакоекономічна оцінка

Фармакотерапія поширених алергічних захворювань, зокрема, алергічного риніту (АР), є однією з актуальних проблем сучасної медицини. Епідеміологічні дослідження, проведені в різних країнах, показують, що за останнє десятиріччя захворюваність АР виросла в десятки разів [1]. Так, розповсюдженість АР у Швеції в 1970-ті роки складала менше 5 %, а вже в 1990-ті роки збільшилася до 15 %. Дослідження, проведені в Росії, також свідчать про тенденції до збільшення захворюваності АР, пік якої приходить на молодий вік – 18–24 років. За даними різних авторів, АР реєструється в 12–24 % жителів регіонів Росії, 26–40 % – США, 24–32 % – Франції, 16 % – Великобританії, 19 % – Данії. На жаль вірогідних статистичних даних по Україні в нас немає. У цілому, епідеміологічні дослідження дозволяють зробити висновок, що в розвинутих країнах 10–25 % населення страждають на АР [2].

На думку деяких дослідників, АР частіше зустрічається в жителів міст, що пов'язано зі збільшенням забруднення повітря в мегаполісах. Установлено, що АР може також провокувати розвиток інших захворювань дихальних шляхів та вуха, зокрема, у 24 % випадків АР є фактором ризику розвитку хронічного середнього отиту, а в 28 % випадків – хронічного риносинуситу. Симптоми АР виявляються в 88 % хворих на бронхіальну астму. Таким чином, АР є фактором ризику розвитку більш важких захворювань, які нерідко можуть призвести до інвалідизації [3, 4].

Крім того, АР виявляє суттєвий вплив на якість життя (ЯЖ) пацієнтів

та їх соціальну активність, що пов'язано з фізичними та психологічними обмеженнями повсякденної активності, порушеннями сну. Захворювання негативно впливає на психоемоційний стан пацієнта [5].

Отже, АР – це системне алергічне захворювання з місцевим проявом запалення в слизовій оболонці порожнини носа, яке розвивається після контакту алергену з сенсibilізованою слизовою оболонкою та супроводжується такими симптомами, як свербіж, чхання, ринорея, закладеність носу. Важливо зазначити системний характер захворювання, наприклад, при сезонному АР у патологічний процес залучається слизова оболонка не тільки носової порожнини, але й біля носових пазух, глотки, кон'юнктиви, тобто сенсibilізується весь організм [1].

Таким чином, актуальність проблеми АР визначається високою розповсюдженістю цієї патології, зниженням ЯЖ, економічними затратами на лікування. Неадекватна терапія чи її відсутність призводить до більш важкого прояву супутніх захворювань, таких як бронхіальна астма, дерматит, синусит, депресія та тривожні розлади.

Мета дослідження – проведення порівняльного маркетингового аналізу сучасних антигістамінних засобів та фармакоекономічна оцінка лікування АР за методологією «мінімізації витрат».

Матеріали та методи. У дослідженні застосовували дані літератури щодо основних проявів і клінічних форм АР, критерії ефективності лікування АР, лікарські засоби, що використовують для лікування АР з зазначеними цінами станом на квітень 2014 року (<http://www.ama.dp.ua/>), методологію «мінімі-

зації витрат» для фармакоекономічної оцінки [6, 7].

Результати та їх обговорення. Клінічна картина. Основними симптомами АР є порушення носового дихання, виділення з носа, свербіж у порожнині носа та приступоподібне чхання. Також хворих турбує ослаблення сприйняття запахів, головний біль, прояви кон'юнктивіту, загальна слабкість та порушення сну. Характеристику основних форм АР представлено в таблиці 1 [8].

Використання будь-яких методів та алгоритмів лікування АР пов'язане з його конкретними клінічними формами та варіантами. У зв'язку з цим до початку лікування необхідно уточнити форму захворювання, а також епізодичність симптомів. Виділяють три форми АР:

1) легка: є лише незначні клінічні ознаки захворювання, які не порушують денну активність та/чи сон, пацієнт усвідомлює наявність проявів захворювання, але, якщо потрібно, може обійтись і без лікування;

2) середньоважка: симптоми риніту порушують сон, перешкоджають роботі, навчанню, заняттям спортом, ЯЖ суттєво погіршується;

3) важка: симптоми настільки виражені, що пацієнт не може нормально працювати, навчатися, займатись спортом протягом дня та спати вночі, якщо не отримує лікування.

Для лікуванні АР використовують немедикаментозні (елімінація алергену, опромінення пацієнта), фармакологічні, хірургічні методи та системну імунотерапію (підшкірне, інтраназальне, сублінгвальне введення алергену).

До медикаментозних засобів, що використовують для терапії АР відносять:

- назальні деконгестанти (при вираженому подразненні слизової оболонки та шкіри біля носу перевагу слід надавати масляним розчинам);
- антигістамінні засоби (топічні та системні);
- антихолінергічні засоби (використовують рідко);

Таблиця 1

Характеристика основних форм алергічного риніту

Клінічні прояви	Інтермітуючий (сезонний)	Персистуючий (протягом року)
Виділення з носу	Водяністі, рясні	Слизисті
Чхання	Приступами	Постійне
Закладеність носу	Ремітуюча	Домінуюча ознака, особливо вночі
Ослаблення сприйняття запахів	Рідко	Доволі часто
Очні симптоми	Зазвичай	Рідко
Супутній хронічний риносинусит	Не характерний	Нерідко
Вірогідність розвитку бронхіальної астми	10–40 %	30–60 %
Зв'язок появи та зникнення симптомів протягом року	Виразений: весною – пилок дерев; початок літа – пилок злаків; пізнє літо – пилок бур'яну	Нечіткий: загострення при сезонних піках, розмноження кліщів у вологій осінній місяці; середина вологого літа – гриби <i>Alternaria</i> , <i>Cladosporium</i>
Вплив життєвих умов, контакт з домашніми тваринами	Відсутній	Має бути
Вплив погодних умов	Покращання самопочуття в дощову безвітряну погоду	Холодний вітер, різкі перепади температури погіршують самопочуття

– кортикостероїди (переважно топічні, системні при дуже важкому перебігу АР);

– нестероїдні протизапальні лікарські засоби (використовують рідко);

– кромони для назального застосування (використовуються рідко);

– модифікатори лейкотрієнів (дороговартісні, застосовуються рідко);

– комбіновані засоби (комбінації назальних деконгестантів та топічних антигістамінних засобів, препарати, до складу яких входять системні деконгестанти – псевдоєфедрин, хлорфенамін тощо) [9, 10].

Натепер антигістамінні засоби є препаратами вибору при АР легкого ступеня. При АР середньої та важкої клінічної форми використовують сумісно з препаратами базисної терапії. У групі антигістамінних засобів нараховують більш в 150 блокаторів H1-гістамінових рецепторів.

Нами розглянуті антигістамінні засоби II покоління, які практично не проникають крізь гематоенцефалічний бар'єр, не проявляють седативного та холінолітичного впливу, не викликають тахіфілаксії, практично не впливають на психомоторні функції, характеризуються більш тривалим періодом напіввиведення, що дозволяє знизити дозу та зменшити кратність прийому.

Загалом в Україні за 2013 рік було реалізовано 14 984 188,75 упаковки антигістамінних засобів, серед яких найчастіше рекомендувалися до продажу антигістамінні засоби II покоління. На рисунку представлено деякі протиалергійні засоби та показник їхньої реалізації в межах України.

У таблиці 2 представлено дані щодо цінової політики зазначених антигістамінних засобів, лідерів продажу в Дніпропетровському регіоні.

Антигістамінні засоби призначають курсом 30 днів, але при недостатній ефективності через 7 днів здійснюють заміну діючої речовини. Як видно з даних таблиці 2, на фармацевтичному ринку країни найрозповсюдженішими є похідні левоцетиризину, лоратадину та дезлоратадину. Вартість курсу 30-денного лікування коливається в

межах від 15,60 грн (Лоратадин-Д) до 221, 34 грн (Еріус). Лідером за реалізацією є Лоратадин-Д (рисунок).

Цікаво зазначити, що левоцетиризин розпочинає діяти раніше та діє триваліше порівняно з деякими іншими антигістамінними засобами щодо вираженості симптомів АР. Так, левоцетиризин починає діяти раніше (1 год), ніж дезлоратадин (3 год) та сприяє більш вираженому зменшенню симптомів через 24 год [11]. Левоцетиризин проявляє здатність збільшувати прохідність верхніх дихальних шляхів у пацієнтів з сезонним АР, що досягається за рахунок протизапальної дії. Цей факт вигідно відрізняє левоцетиризин від деяких інших представників антигістамінних препаратів. При лікуванні ідіоматичної кропивниці левоцетиризин перевершує лоратадин та дезлоратадин за ефективністю та має більш сприятливий профіль безпеки порівняно з лоратадином.

При АР середньоважкого та важкого ступеня до терапії антигістамінними препаратами II покоління підключають інтраназальні глюкокортикоїди та/або блокатори лейкотрієнових рецепторів (кромглікат натрію).

Кромглікат натрію має мембраностабілізуючу дію, перешкоджає дегрануляції тучних клітин, виділенню з них гістаміну, брадикініну, лейкотрієнів (у тому числі, повільно реагуючої субстанції) й інших біологічно активних речовин. Кромони, що характеризуються низькою частотою побічних ефектів, менш ефективні в лікуванні АР; їх застосовують з профілактичною метою, при легкому ступені важкості захворювання або сумісно з антигістамінними препаратами [12].

Незважаючи на те, що АР не є тяжким захворюванням, він має значний вплив на ЯЖ, психологічний стан і соціальне функціонування пацієнта. Близько 55 % хворих на АР відзначають серйозні порушення ЯЖ [13]. Згідно з даними дослідження ERAF, 35 % хворих цілорічним АР відзначають негативний вплив захворювання на сон, 70 % – кар'єру, 90 % – особисте життя. Дослідження ERASM показало, що > 70 % хворих на сезон-

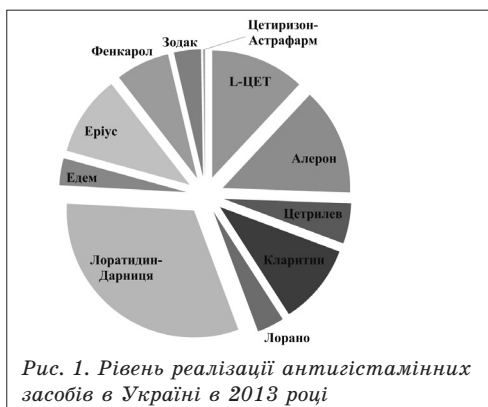
Антигістамінні засоби та цінова політика (дані 2013 р.)

Назва засобу	Доза та кількість таблеток в упаковці	Діюча речовина	Ціна роздрібна, грн	Ціна курсу лікування (30 днів), грн
L-Цет (Кусум Хелтхкер, Індія)	Таблетки по 5 мг № 30	Левосетиризин	44,62	44,62
Алерон (Emcare Pharm.lim., Індія)	Таблетки по 5 мг № 30	Левосетиризин	46,07	46,07
Зодак (Зентива, Словачка республіка)	Таблетки по 10 мг № 30	Цетиризин	48,23	48,23
Кларитин (Шерінг-Плау Лабо Н. В., Бельгія)	Таблетки по 10 мг № 10	Лоратадин	51,41	154,23
Лорано (Салютас Фарма, ГмбХ, Німеччина)	Таблетки по 10 мг № 20	Лоратадин	38,29	57,45
Лоратадин-Д (Дарниця, Україна)	Таблетки по 10 мг № 10	Лоратадин	5,20	15,60
Фенкарол (Олайнский ХФЗ, Латвія)	Таблетки по 25 мг № 20	Хінуклідим карбінола	30,56	45,84
Цетиризин-Астрафарм (Астрафарм, Україна)	Таблетки по 10 мг № 10	Цетиризин	21,02	63,06
Цетрилев (ФДС Лімітед, Індія)	Таблетки по 5 мг № 30	Левосетиризин	42,41	42,41
Едем (Фармак, Україна)	Таблетки по 5 мг № 30	Дезлоратадин	52,56	52,56
Еріус (Шерінг-Плау Лабо Н.В., Бельгія)	Таблетки по 5 мг № 10	Дезлоратадин	73,78	221,34

ний АР відзначають порушення настрою та сну в сезон цвітіння. Порушення сну негативно впливає на загальний стан та ЯЖ таких хворих. Як правило, ступінь порушень сну

прямо корелює з тяжкістю захворювання, призводить з часом до зниження продуктивності праці та соціального функціонування, формування синдрому хронічної втоми, який у свою чергу підвищує ризик виникнення супутніх захворювань [14].

Таким чином, для більш обґрунтованого висновку щодо доцільності вибору того чи іншого антигістамінного засобу у хворих на АР необхідно проводити якомога більше фармакоекономічного аналізу в Україні, й на підставі отриманих даних розробляти рекомендації з оптимізації використання лікарських засобів та інших методів лікування, вносити отримані результати в протоколи ведення хворих і формулярну систему.



1. Заболотный Д. И. Эпидемиология, диагностика и лечение аллергического ринита / Заболотный Д. И. // Здоров'я України. – 2009. – № 9/1. – С. 9.
2. Иванова О. Н. Эпидемиология аллергического ринита у детей республики Саха (Якутия) // Иванова О. Н., Артемьева З. М. / Фундаментальные исследования. – 2007. – № 11 – С. 59–59.
3. Вылегжанина Т. Г. Взаимосвязь аллергического ринита бронхиальной астмы / Вылегжанина Т. Г. // Consilium Medicum. – 2001. – Т. 3, № 12. – С. 579–581.
4. Паттерсон Р. Аллергические болезни: диагностика и лечение / Р. Паттерсон, Л. К. Грэммер, П. А. Гринберг. – М., 2000. – 768 с.
5. Juniper E. F. Assessment of quality of life in adolescents with allergic rhinoconjunctivitis: development and testing of a questionnaire for clinical trials / Juniper E. F., Guyatt G. H., Dolovich J. // J. Allergy Clin. Immunol. – 1994. – V. 93. – P. 413–423.
6. Фармакоэкономика: Навчальний посібник для студентів вузів: за ред. Л. В. Яковлевої / Яковлева Л. В., Бездітко Н. В., Герасимова О. О. [та ін.]. – Вінниця : Нова Книга, 2009. – 208 с.
7. Макаренко О. В. Общая фармакоэкономика. Краткий курс лекций с алгоритмами // Макаренко О. В. / Учебно-методическое пособие. – Днепропетровск, 2013. – 75 с.
8. Макаренко О. В. Фармакоэпидемиологическое исследование применения антигистаминных препаратов в лечении аллергического ринита / О. В. Макаренко, В. И. Мамчур, Е. К. Рудая-Мамчур / Материалы II научно-практической конференции «Фармакоэкономика в Украине: состояние и перспективы развития», 21–22 мая 2009, г. Харьков. – С. 182–184.
9. Заболотный Д. И. Лечение больных аллергическим ринитом, полипозным риносинуситом, ассоциированным с бронхиальной астмой / Заболотный Д. И. // Укр. пульмонолог. журн. – 2000. – № 2. – С. 43–46.
10. Ozdoganoglu T. The burden of allergic rhinitis and asthma / Ozdoganoglu T., Songu M. // Ther. Adv. Respir. Dis. – 2012. – № 6 (1). – P. 3–11.
11. Levocetirizine improves nasal symptoms and airflow in patients with persistent allergic rhinitis: a pilot study / Ciprandi G., Cirillo I. G., Vizzaccaro A., Tosca M. A. // Eur Ann Allergy Clin Immunol. – 2005. – № 37 (1). – P. 25–9.
12. Izquierdo-Domínguez A. Comparative anal I of allergic rhinitis in children and adult / Izquierdo-Domínguez A., Valero A. L., Mullol J. / Curr. Allerg Asthma R. – 2013. – № 13 (2). – P. 142–151.
13. Szelenyi I. Allergic rhinitis: meaningful and less meaningful combination treatments including remissions / Szelenyi I. // Pharmazie. – 2014. – V. 69, № 6. – P. 414–416.
14. Immunologic response and safety in birch pollen sublingual versus oral vestibule immunotherapy: a pilot study. / Allam J. P., Wuestenberg E., Wolf H. [et al.] // J. Allergy Clin Immunol. – 2014. – V. 133, № 6. – P. 1757–1769.

О. В. Макаренко, Д. С. Соломко

Фармакоэкономічна оцінка терапії алергічного риніту

У статті проведено аналіз даних літератури щодо поширеності та рівня захворюваності на алергічний риніт в країнах Європи та України. За даними різних авторів, алергічний риніт реєструють в 12–24 % жителів регіонів Росії, 26–40 % – США, 24–32 % – Франції, 16 % – Великобританії, 19 % – Данії. Визначені основні клінічні форми алергічного риніту: легка, середньоважка та важка. Представлені загальні принципи фармакотерапії легкої та середньоважкої форми алергічного риніту. Сьогодні антигістамінні засоби є препаратами вибору при алергічному риніті легкого ступеня. При алергічному риніті середньоважкої та важкої клінічної форми антигістамінні засоби використовують з препаратами базисної терапії. У групі антигістамінних засобів нараховують понад 150 блокаторів H1-гістамінових рецепторів.

Проведено порівняльний маркетинговий аналіз сучасних антигістамінних препаратів, серед яких визначені лідери реалізації в Дніпропетровському регіоні: похідні дезлоратадину, цетеризину та лоратадину. Серед торгових найменувань найчастіше зустрічалися Лоратадин–Дарниця, Цетрилев, Алерон, Кларитин, Еріус та ін. Оцінена вартість курсу лікування алергічного риніту сучасними антигістамінними засобами, який коливається в межах від 15,6 до 221,3 грн для вітчизняного Лоратадин–Ді і брендового засобу Еріус (США) відповідно. Значні економічні втрати від неправильного лікування алергічного риніту роблять проблему адекватної терапії вкрай актуальною. При цьому найдоцільніше орієнтуватися не тільки на клінічне поліпшення, але й на якість життя пацієнтів, що частіше визначає економічну доцільність різних терапевтичних підходів.

Ключові слова: алергічний риніт, фармакотерапія, антигістамінні засоби, фармакоэкономічна оцінка

О. В. Макаренко, Д. С. Соломко

Фармакоэкономическая оценка терапии аллергического ринита

В статье проведен анализ данных литературы по распространенности и уровню заболеваемости аллергическим ринитом в странах Европы и Украине. По данным разных авторов, аллергический ринит регистрируют у 12–24 % жителей регионов России, 26–40 % – США, 24–32 % – Франции, 16 % – Великобритании, 19 % – Дании. Определены основные клинические формы аллергического ринита:

легкая, среднетяжелая и тяжелая. Представлены общие принципы фармакотерапии легкой и среднетяжелой формы аллергического ринита. Антигистаминные средства являются препаратами выбора при аллергическом рините легкой степени. При АР среднетяжелой и тяжелой клинической формы их используют с препаратами базисной терапии. В группе антигистаминных средств насчитывают более 150 блокаторов H1-гистаминовых рецепторов.

Проведен сравнительный маркетинговый анализ современных антигистаминных препаратов, среди которых определены лидеры реализации в Днепропетровском регионе: производные дезлоратадина, цетеризина и лоратадина. Среди торговых наименований наиболее часто встречались Лоратадин–Дарница, Цетривекс, Алерон, Кларитин, Эриус и др. Оценена стоимость курса лечения АР современными антигистаминными средствами, который колеблется в границах от 15,6 до 221,3 грн для отечественного Лоратадина-Д и брендового средства Эриус (США) соответственно. Значительные экономические потери от неправильного лечения АР делают проблему адекватной терапии крайне актуальной. При этом наиболее целесообразно ориентироваться не только на клиническое улучшение, но и на качество жизни пациентов, часто определяющее экономическую целесообразность различных терапевтических подходов.

Ключевые слова: аллергический ринит, фармакотерапия, антигистаминные средства, фармакоэкономическая оценка

O. V. Makarenko, D. S. Solomko

Pharmacoeconomic evaluation of allergic rhinitis treatment

The importance of the problem of allergic rhinitis (AR) morbidity is stated in the article. The analysis of literature data on the prevalence and morbidity of AR in Europe and Ukraine was carried out. According to different authors, AR occurs in 12–24 % of population in Russia, 26–40 % – in the USA, 24–32 % – in France, 16 % – in the UK, 19 % – in Denmark. The main clinical forms of AR include mild, moderate and severe. The general principles of pharmacotherapy of mild and moderate forms of AR are represented. Nowadays antihistamines are the drugs of choice for treatment of mild AR. In moderate and severe clinical forms of AR basic therapy drugs are used. The group of antihistamines include more than 150 H1-histamine blockers.

A comparative marketing analysis of modern antihistamines (including the bestsellers in Dnepropetrovsk region – derivatives of desloratadine, loratadine and cetirizine) was carried out. Trade names of these drugs include Loratadine-Darnitsa, Cetrilev, Aleron, Claritin, Acrius, etc. Cost of AR treatment by modern antihistamines is estimated. It varies in the range from 15,6 UAH (for Ukrainian generic drug Loratadine-D) to 221,3 UAH (for brand drug Acrius, USA). Significant economic loss from wrong AR treatment makes the problem of adequate therapy extremely important. The most expedient is to focus not only on clinical improvement, but also on the quality of life of patients that often determines the economic advisability of various therapeutic approaches.

Key words: allergic rhinitis, pharmacotherapy, antihistamines, pharmacoeconomic evaluation

Надійшла: 10.06.2014 р.

Контактна особа: Макаренко О. В., доктор медичних наук, доцент, кафедра фармакології, клінічної фармакології і фармакоекономіки, ДЗ «Дніпропетровська медична академія», буд. 9, вул. Дзержинського, м. Дніпропетровськ, 49044. Тел.: + 38 0 56 713 52 57.
Електронна пошта: makarenko011@rambler.ru

За сторінками журналу «WHO Pharmaceuticals Newsletter»

Аліскерин, інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ) або блокатори рецепторів ангіотензину

Нові застереження щодо лікарських засобів, що впливають на артеріальний тиск

Канада. Міністерство охорони здоров'я Канади (Health Canada) інформує фахівців у галузі охорони здоров'я та пацієнтів щодо ризиків, асоційованих з комбінованим застосуванням більше ніж одного з наступних препаратів, що впливають на тиск крові: аліскерин (інгібітор реніну), інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту (інгібітори АПФ) або блокатори рецепторів ангіотензину.

Останні дослідження продемонстрували, що будь-яка комбінація аліскерину, інгібіторів АПФ або блокаторів рецепторів ангіотензину підвищують ризик виникнення гіпотензії, гіперкаліємії та проблем з нирками.

Крім того, аліскерин не може застосовуватися в комбінації з інгібіторами АПФ або блокаторами рецепторів ангіотензину у хворих на діабет або пацієнтів з захворюваннями нирок через додатковий ризик виникнення раптових нападів та знепритомнення у цих пацієнтів. Інформація про застосування має бути оновлена для кращого відображення нових рекомендацій щодо безпечного застосування зазначених лікарських засобів.

(See WHO Pharmaceuticals Newsletter N 3, 2012 for new warning and contraindication in the US, N 1, 2012 for contraindication in patients with diabetes taking an ACE inhibitor or an ARB in Canada and N 2, 2012 in Europe).

Література: Advisories, Warnings and Recalls, Health Canada, 4 February 2014 (www.hc-sc.gc.ca/)

Кветіапін

Ризик пролонгації інтервалу QT

Австралія. Австралійська адміністрація лікарських засобів (TGA) рекомендує професіоналам охорони здоров'я оновити інформацію для застосування кветіапіну (Seroquel® та його генеричні аналоги), включивши додаткову інформацію щодо ризику пролонгації інтервалу QT.

Кветіапін – атипичний антипсихотичний препарат, показаний для застосування в лікуванні шизофренії та біполярних розладів. Сьогодні інформація для застосування рекомендує уникати його застосування, особливо в літніх пацієнтів, разом з антипсихотичними та іншими препаратами, для яких відома здатність до пролонгації інтервалу QT. Вони включають:

- клас IA антиаритмічних засобів (такі як дизопірамід);
- клас III антиаритмічних засобів (такі як аміодарон та соталол);
- антипсихотичні засоби (такі як зіпразидон, хлорпромазин або галоперидол);
- антибіотики (такі як еритроміцин);
- інші (такі як циталопрам, пентамідин і метадон).

В оновленій інформації також рекомендується уникати застосування кветіапіну в пацієнтів, що мають в анамнезі серцеві аритмії, гіпокаліємію або гіпомagneмію, а також вроджену пролонгацію інтервалу QT через підвищення ризику тріпотіння-мерехтіння шлуночків та/або раптової смерті.

Крім того, інформація для застосування має бути оновлена шляхом включення додаткової інформації про ризик венозної тромбоемболії (VTE), акатизії, нейтропенії.

Професіоналів охорони здоров'я закликають ознайомитися з останніми версіями інформації для застосування кветіапіну та докладно оновити інформацію відносно пролонгації інтервалу QT, венозної тромбоемболії, акатизії та нейтропенії в розділі «Запобіжні заходи».

Література: Medicines Safety Update Vol. 5, N 1, February 2014. (www.tga.gov.au)

Стронцію ранелат

Препарат залишається доступним, але з подальшим обмеженням

Європа. Європейське Медичне Агентство (EMA) дійшло висновку щодо стронцію ранелату (Protelos® та Osseor®) і рекомендує подальші обмеження його застосування у хворих на остеопороз, які не можуть бути ліковані іншими препаратами. Крім того, пацієнти мають регулярно обстежуватися лікарем, і лікування має бути припинене в осіб, у яких виникли проблеми з боку серцево-судинної системи: неконтрольоване підвищення артеріального тиску або стенокардія. Як було раніше рекомендовано, у пацієнтів з відомими проблемами з боку серцево-судинної системи, такими як інсульт та інфаркт в анамнезі, препарат не має застосовуватись.

Ці остаточні рекомендації CHMP надані після перших рекомендацій від Комітету з оцінки ризиків за результатами фармаконагляду PRAC, щодо призупинки застосування препарату через ризики для серцево-судинної системи.

Комітет Агентства з лікарських продуктів для використання в людини (CHMP) зазначив дані досліджень щодо сприятливого впливу стронцію ранелату в запобіганні переломів, включно з пацієнтами, що мають високий ризик переломів. Крім того, доступні дані не надали доказів підвищення ризиків для серцево-судинної системи при застосуванні стронцію ранелату в пацієнтів, які не мають в анамнезі проблем з боку серця або судин. CHMP вважає, що ризики з боку серцево-судинної системи в пацієнтів, що приймають стронцію ранелат, можуть бути керовані шляхом обмеження його використання пацієнтами, що не мають проблем з боку серцево-судинної системи в анамнезі, і тими, хто не може приймати інші препарати, призначені для лікування остеопорозу. Крім того, пацієнти, що отримують стронцію ранелат, мають пройти відповідне обстеження до початку лікування й надалі проходити його регулярно кожні 6–12 місяців.

Додаткові заходи з мінімізації ризиків включають надання навчальних матеріалів лікарям, які призначають даний лікарський засіб, аби гарантувати, що тільки відповідні пацієнти можуть лікуватися зазначеним препаратом. Важливо зобов'язати компанії проводити подальші дослідження для демонстрації ефективності нових заходів.

Стронцію ранелат авторизований в ЄС для лікування важкого остеопорозу в жінок у післяменопаузальному періоді, які мають великий ризик переломів, з метою зниження ризику переломів хребта та стегна. Він також використовується для лікування важкого остеопорозу в чоловіків з високим ризиком переломів.

Література: Press release, EMA, 21 February 2013 (www.ema.europa.eu).

Саксагліптин

Огляд ризику розвитку серцевої недостатності

США. Адміністрація з контролю за ліками та харчовими продуктами США (FDA) зробила запит виробникам саксагліптину (Onglyza® та KombiglyzeTMXR) щодо даних клінічних досліджень для з'ясування можливого зв'язку між використанням препаратів для лікування діабету типу 2 і серцевою недостатністю. Запит FDA базується на дослідженні, опублікованому в New England Journal of Medicine (NEJM), у якому доповідається про підвищення рівня госпіталізації з приводу серцевої недостатності при застосуванні саксагліптину порівняно з плацебо. Дослідження не показало підвищення смертності або інших значних кардіоваскулярних ризиків, включаючи серцеві напади або інфаркт у пацієнтів, що отримували саксагліптин.

На даний час FDA обмірковує попередню інформацію, наведену в NEJM. Аналіз даних клінічних досліджень саксагліптину є частиною повної оцінки всіх типів лікарських засобів для лікування діабету 2 типу і кардіоваскулярних ризиків при їхньому застосуванні.

Саксагліптин використовується разом з дієтою для зниження рівня цукру в крові в дорослих з діабетом типу 2. Він діє, підвищуючи продукцію інсуліну в організмі після їжі, коли спостерігається високий рівень цукру крові.

Рекомендовано, аби пацієнти не припиняли прийом саксагліптину і зверталися до своїх лікарів з будь-яких питань та проблем.

Література: FDA Drug Safety Communication, US FDA 11 February 2014 (www.fda.gov).

Азатіоприн і меркаптопурин

Зв'язок з печінково-селезінковою Т-клітинною лімфомою

Канада. Triton Pharma Inc. та Teva Canada Ltd. у ході консультацій з Міністерством охорони здоров'я Канади (Health Canada) інформували про зв'язок між використанням пуринового антагоніста азатіоприну (Imuran®) та розвитком печінково-селезінкової Т-клітинної лімфони (HSTCL), в основному в пацієнтів, що використовували азатіоприн та меркаптопурин при запальних захворюваннях кишечника (IBD). Схвалена Міністерством охорони здоров'я Канади інформація для застосування не передбачає використання азатіоприну та меркаптопурина як монотерапії запальних захворювань кишечника.

Інформація про застосування азатіоприну та меркаптопурина оновлена щодо можливості розвитку печінково-селезінкової Т-клітинної лімфони за їхнього сумісного застосування при запальних захворюваннях кишечника, та лікарі мають зважувати наявну на даний час інформацію щодо співвідношення ризик/користь при зазначеному лікуванні у своїх пацієнтів.

Література: Advisories, Warnings and Recalls, Health Canada, 27 March 2014 (www.hc-sc.gc.ca).

Комбіновані гормональні контрацептиви

Перегляд підтверджених ризиків тромбоемболії вен

Велика Британія. Регуляторне Агентство з лікарських засобів та продуктів для здоров'я (MHRA) на підставі розгляду останніх свідчень щодо ризику тромбоемболії вен, пов'язаному із застосуванням комбінованих гормональних контрацептивів (CHCs), оголосило, що:

- ризик утворення тромбів при низькодозовій гормональній контрацепції невеликий;
- існують достатні докази, що ризик тромбоемболії вен (VTE) може відрізнятися в продуктів залежно від умісту прогестагенів;

- гормональні контрацептиви, що містять левоноргестрел, норетистерон або норгестимат, мають низький ризик розвитку ВТЕ;
- користь від застосування гормональних контрацептивів суттєво переважає ризик виникнення серйозних побічних ефектів;
- лікарі, що призначають, та жінки, що приймають гормональні контрацептиви, мають бути обізнані з основними факторами ризику щодо тромбоемболій вен, їхніх основних ознак і симптомів.

Фахівцям у галузі охорони здоров'я рекомендується розглядати фактори ризику виникнення тромбоемболії вен і зберігати пильність щодо виявлених ознак і симптомів.

Фахівці в галузі охорони здоров'я мають також поради жінкам уважно читати інформацію для пацієнта, що супроводжує кожну упаковку гормональних контрацептивів, і відзначити, що вони використовують гормональні контрацептиви, якщо їх запитують, чи приймають вони які-небудь інші ліки.

Література: Drug Safety Update, February 2014, Volume 7, issue 7, A2 MHRA, (www.mhra.gov.uk).

Звіробій та гормональні контрацептиви, включаючи імпланти Зниження ефекту контрацепції

Велика Британія. Регуляторне Агентство з лікарських засобів та продуктів для здоров'я (MHRA) оголосило, що звіробій взаємодіє з гормональними контрацептивами. Ця взаємодія супроводжується зниженням ефективності контрацептивів та підвищенням ризику виникнення непланованої вагітності. Це стосується всіх гормональних контрацептивів, за виключенням внутрішньоматкових пристроїв, щодо яких на даний час відсутні дані.

Звіробій (*Hypericum perforatum* L.) є рослинним лікарським засобом, що традиційно використовується для покращання зниженого настрою та зняття легкого занепокоєння.

MHRA отримала два повідомлення в останньому кварталі 2013 року про підозрювану взаємодію в жінок з імплантованими контрацептивами, що містять етоноргестрел (Nexplanon® та Implanon®). Ці жінки після прийому препаратів звіробою мали незаплановану вагітність.

Перестороги щодо такої взаємодії включені в інформацію для застосування всіх контрацептивів і схвалених продуктів звіробою. Деякі неліцензовані в Великій Британії або доступні online продукти не містять подібну інформацію. Відсутність інформації не свідчить про відсутність взаємодії, тому спеціалістам у галузі охорони здоров'я рекомендується інформувати жінок, що приймають гормональні контрацептиви для попередження вагітності, про те, що вони не мають приймати рослинні препарати, що містять у складі звіробою. Ці рекомендації стосуються всіх гормональних контрацептивів, за виключенням внутрішньоматкових пристроїв, щодо яких дані відсутні. Також необхідно давати раду жінкам ретельно ознайомлюватись з інформацією для застосування, що супроводжує кожну упаковку гормональних контрацептивів.

Література: Drug Safety Update, March 2014, Volume 7, issue 8, A2 MHRA, (www.mhra.gov.uk).

Продукти тестостерону Досліджуваний ризик реакцій з боку серцево-судинної системи

США. Адміністрація з контролю за ліками та харчовими продуктами США (FDA) досліджує ризик розвитку інсульту, інфаркту та смерті в чоловіків, які приймають схвалені FDA лікарські засоби, що містять тестостерон. FDA контролює ці ризики й вирішила переглянути безпечність препаратів тестостерону на основі останніх публікацій за результатами двох окремих досліджень, у кожному з яких одержані дані щодо підвищення ризику реакцій з боку серцево-судинної системи в чоловіків, які отримують терапію тестостероном. FDA підготувало це повідомлення, продовжуючи оцінку інформації з цих досліджень та інших доступних даних. FDA продовжує консультації для остаточних висновків та рекомендацій після повної оцінки. Продукти тестостерону схвалені FDA тільки для використання в чоловіків, у яких відсутній або знижений рівень тестостерону, пов'язаний з відповідними захворюваннями.

На даний час FDA не дійшла висновку, що лікування схваленими FDA препаратами тестостерону підвищує ризик інсульту, інфаркту або смерті. FDA радить, аби пацієнти не переривали лікування призначеними продуктами тестостерону без попереднього обговорення питання з лікарем. При призначенні препаратів тестостерону лікарю слід розглядати питання щодо переважання користі від його застосування над потенційними ризиками, враховуючи схвалену інформацію для застосування.

Література: FDA Drug Safety Communication, US FDA 31 January 2014 (www.fda.gov).

Діацерин-вміщуючі лікарські засоби Рекомендації щодо обмеження використання діацерин-вміщуючих лікарських засобів

Європа. Координаційна група з взаємного визнання та децентралізованих процедур – Людина (Co-ordination Group for Mutual Recognition and Decentralised Procedures – Human (CMDh)) схвалила рекомендації щодо обмеження використання діацерин-вміщуючих лікарських засобів для управління ризиками виникнення важкої діареї та негативного впливу на печінку.

Через ризики, пов'язані з можливістю виникнення важкої діареї, діацерин-вміщуючі лікарські засоби більше не рекомендовані для застосування в пацієнтів віком 65 років і більше. Також рекомендується, аби пацієнти починали лікування з половини звичайної дози (50 мг на день замість 100 мг) та припиняли прийом діацерин-вміщуючих препаратів при виникненні діареї.

Крім того, діацерин-вміщуючі лікарські засоби не потрібно застосовувати в пацієнтів з захворюваннями печінки або тих, що мали захворювання печінки в анамнезі. Лікарі мають контролювати таких пацієнтів для виявлення ранніх ознак проблем з боку печінки. Лікарі на основі наявних даних також мають враховувати, що застосування препаратів діацерину має бути обмеженим за погрожуючих симптомів остеоартриту стегна або коліна. Лікування може бути розпочате лише лікарем, що має досвід лікування остеоартриту.

Ці рекомендації базуються на огляді співвідношення користь/ризик від застосування діацерину, проведеного Комітетом з фармаконагляду та оцінки ризиків (PRAC) Європейського Медичного Агентства (EMA's) за запитом Французького Медичного Агентства (French medicines agency – ANSM) про впливи препаратів діацерину на шлунково-кишковий тракт та печінку.

Література: Press release, EMA, 21 March 2013 (www.ema.europa.eu).

Літій

Ризик гіперкальціємії та гіперпаратиреоїдизму

Канада. Міністерство охорони здоров'я Канади (Health Canada) інформувало професіоналів охорони здоров'я, що воно переглянуло наявні докази та наукову літературу й визначило, що літій може викликати гіперкальціємію, яка може або не може супроводжуватися гіперпаратиреоїдизмом. Користь при застосуванні цього лікарського засобу в лікуванні біполярних розладів продовжує переважати відомі ризики при його застосуванні.

Health Canada рекомендує професіоналам охорони здоров'я визначати рівень кальцію в крові перед початком лікування, потім через 6 місяців від початку прийому препарату і надалі 1 раз на рік при тривалому застосуванні.

Також рекомендовано визначати рівень паратгормона в крові для розпізнавання або виключення гіперпаратиреоїдизму (за необхідності).

Література: Advisories, Warnings and Recalls, Health Canada, 5 February 2014 (www.hc-sc.gc.ca).

Дорипенем

Ризик при використанні для лікування пневмонії в пацієнтів, що знаходяться на штучній вентиляції легень

США. Адміністрація з контролю за ліками та харчовими продуктами США (FDA) дійшла висновку, що застосування протимікробного засобу дорипенему (Doribax®) у лікуванні пневмонії в пацієнтів, що знаходяться на штучній вентиляції легень, несе підвищений ризик смерті та має нижчу клінічну ефективність порівняно з використанням іміпенему та циластатину (Primaxin®) для ін'єкцій.

Лікарі мають розглянути питання щодо доцільності використання дорипенему з урахуванням потенційних ризиків для пацієнтів, що знаходяться на штучній вентиляції легень. Дорипенем до цього часу вважається безпечним та ефективним при застосуванні за схваленими FDA показаннями – лікування дорослих із ускладненими внутрішньоабдомінальними інфекціями й ускладненими інфекціями сечових шляхів, включаючи інфекційні захворювання нирок (пієлонефрити).

(Див. WHO Pharmaceuticals Newsletter № 2, 2012 щодо високого рівня смертності та низької клінічної ефективності, що спостерігалася в ході порівняльних клінічних досліджень у Канаді).

Література: FDA Drug Safety Communication, US FDA 5 March 2014 (www.fda.gov).

Лікарські засоби, що містять метисергід

Заклопотаність з приводу виникнення фіброзу

Європа. Європейське Медичне Агентство (EMA) рекомендує обмежити використання препаратів на основі метисергиду через побоювання, що вони можуть спричинити розвиток фіброзу. Препарати на основі метисергиду на даний час можуть застосовуватися тільки для профілактики тяжкої мігрені й кластерного головного болю за неефективності інших лікарських засобів.

Крім того, лікування може бути розпочате й проводитися під наглядом лікаря, що має досвід лікування мігрені та кластерного головного болю. Пацієнти також мають пройти обстеження щодо наявності фіброзу перед початком лікування, і мають проходити відповідні обстеження кожні 6 місяців. Лікування має бути припинене при появі симптомів фіброзу.

Комітет Агентства з лікарських продуктів для використання в людини (CHMP) підготував огляд, зазначивши необхідність додержання цих рекомендацій при використанні метисергиду та інших препаратів даного класу (похідні ерготаміну). Симптоми фіброзу часто виникають через деякий час, і за відсутності контролю діагноз може бути встановлений занадто пізно аби запобігти серйозному (небезпечному для життя) ушкодженню органів.

Комітет відмічає релевантний клінічний ефект метисергіду при застосуванні в пацієнтів з регулярними нападами мігрені або кластерного головного болю, для яких лікування лімітоване.

Метисергід – лікарський препарат, що належить до класу «алкалоїдів ерготаміну», що застосовується в Європейському Союзі для профілактики мігрені (з або без аури) та інших типів пульсуючого головного болю.

Література: Press release, EMA, 21 February 2013 (www.ema.europa.eu).

Орлістат

Взаємодія з антиретровірусними препаратами

Велика Британія. Регуляторне Агентство з лікарських засобів та продуктів для здоров'я (MHRA) повідомило, що орлістат теоретично може знижувати абсорбцію антиретровірусних препаратів. Це може призвести до затримки ліпофільних препаратів у травному тракті або знизити час проходження по травному тракту. Зазначені взаємодії можуть спричинити негативний вплив на ефективність антиретровірусної терапії. Отримані повідомлення щодо підозрюваної взаємодії між орлістатом і ефавіренцем та між орлістатом і лопінавіром, однак, теоретично такий механізм взаємодії може мати місце в разі інших антиретровірусних препаратів.

Професіоналам у галузі охорони здоров'я надані рекомендації розпочинати лікування орлістатом лише після ретельного розгляду можливого впливу на ефективність антиретровірусних препаратів. Фармацевти мають попередити пацієнтів, які приймають антиретровірусні препарати, проконсультуватися з лікарем перед прийомом 60 мг орлістату, що відпускається без рецепта.

Орлістат – потенційний, специфічний і тривало діючий інгібітор ліпаз травного тракту, що знижує кількість жирів, які надходять до організму з їжею. Орлістат показаний для зниження ваги в комбінації з низько-калорійною, знежиреною дієтою. Він доступний у капсулах по 120 мг під торговельною назвою Xenical® і в капсулах по 60 мг під торговельною назвою AlliTM. Xenical® відпускається виключно за рецептом, тоді як AlliTM відпускається без рецепта під наглядом фармацевта.

Література: Drug Safety Update, March 2014, Volume 7, issue 8, A1 MHRA, (www.mhra.gov.uk).

*Склали: член-кореспондент НАМН України Т. Бухтіарова,
кандидат медичних наук Т. Єфімцева*

ЮЛІЯ ІВАНІВНА ЛОБОДА

1927–2014



Після тяжкої тривалої хвороби на 87 році пішла з життя доктор біологічних наук Юлія Іванівна Лобода, співробітник Інституту фармакології та токсикології НАМН України

Ю. І. Лобода народилася 20 червня 1927 року в с. Базавлука Апостолівського району Дніпропетровської області в сім'ї службовця.

У 1951 році Ю. І. Лобода закінчила біологічний факультет Київського державного університету імені Т. Г. Шевченка за спеціальністю біохімія. За направленням університету була прийнята на роботу в Український науководослідний санітарно-хімічний інститут (тепер ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ»). Трудову діяльність розпочала з посади лаборанта з вищою освітою, потім працювала молодшим науковим, науковим, старшим науковим співробітником та завідувачем лабораторії. У 1960 році захистила дисертацію на здобуття наукового ступеня кандидата наук, а в 1974 році – доктора біологічних наук. Уся трудова діяльність Ю. І. Лободи пов'язана лише з Інститутом фармакології та токсикології (1951–1989 рр.).

Основним напрямом наукових досліджень Ю. І. Лободи було вивчення механізмів дії токсичних агентів різних хімічних класів, у тому числі важких металів, фосфорорганічних сполук та пошук антидотів за уражень зазначеними токсикантами. Багато років життя Юлія Іванівна присвятила, зокрема, створенню реактиваторів холінестерази.

Юлія Іванівна – один із розробників препаратів унітіол, мекаптид та аллоксим, які було впроваджено в медичну практику.

Ю. І. Лобода є автором понад 130 наукових робіт, авторських свідоцтв на винаходи. Вона підготувала 3 кандидатів наук.

Проживши тривале та непросте життя, Юлія Іванівна залишалася чуйною, порядною, ерудованою людиною, хорошим організатором, світлий образ якої назавжди збережеться в пам'яті друзів, колег та учнів.

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»

ЛОРА ДМИТРІВНА ПРОЦЕНКО

1927–2014



24 червня 2014 року пішла з життя Лора Дмитрівна Проценко.

Л. Д. Проценко працювала в Інституті фармакології та токсикології НАМН України з 1953 по 1986 рік. Пройшла шлях від молодшого наукового співробітника до професора, керівника лабораторії та хімічного сектора Інституту.

Протягом своєї творчої діяльності Л. М. Проценко створила та успішно розвивала науковий напрям – хімію фосфорильованих алкілюючих сполук та піримідинів, зокрема, похідних етиленіміну та хлоретиламіну. Плідна робота з розробки методів синтезу вказаних хімічних сполук, вивчення залежності між хімічною будовою та біологічною дією дала можливість створити нові класи фізіологічно активних речовин, що мають виражену протипухлинну дію. Деякі з них, а саме препарати етимідин, бензотет, фторбензотет, дийодбензотет, хлофіден, автором яких є професор Л. Д. Проценко, знайшли застосування в медичній практиці.

Професор Л. Д. Проценко також успішно працювала над проблемою, яка на той час постала перед Інститутом – створення антидотних засобів. Вона є автором двох препаратів антидотного типу дії, а саме: антиціану – засобу для лікування отруєнь похідними синільної кислоти, фіциліну – антидота, що застосовується при дії подразнюючих речовин на організм.

Результати багаторічних досліджень узагальнені Л. Д. Проценко (у співавторстві з З. П. Буліною) у монографічному довіднику «Хімія і фармакологія синтетичних протипухлинних препаратів» («Наукова думка», Київ, 1985 р., 265 с.). Л. Д. Проценко є співавтором монографії «Протипухлинний препарат бензотет» («Вища школа», Київ, 1973 р., 174 с.).

Широко відома науково-організаційна робота професора Л. Д. Проценко. Протягом багатьох років (1960–1986 рр.) вона очолювала в Інституті лабораторію синтезу алкілюючих сполук. Водночас майже весь цей період Л. Д. Проценко була

керівником хімічного сектора Інституту (на громадських засадах), тобто фактично визначала стратегію та напрями розвитку хімічних досліджень в Інституті.

Професор Л. Д. Проценко є автором 178 друкованих праць, має 68 авторських свідоцтв на винаходи. Нею створена наукова школа, послідовники якої доктор хім. наук В. М. Овруцький, доктор фарм. наук І. Й. Кузьменко очолювали наукові відділи Інституту. Під її керівництвом захищено 7 кандидатських дисертацій.

Результати досліджень наукової школи, керованої професором Л. Д. Проценко, неодноразово доповідались на вітчизняних та міжнародних наукових форумах. За цикл робіт зі створення нових протипухлинних препаратів Л. Д. Проценко присуджена Державна премія УРСР (1976 р.), присвоєно почесне звання «Заслужений винахідник УРСР» (1972 р.). За багаторічну та плідну роботу професор Л. Д. Проценко нагороджена орденами «Знак пошани» (1976 р.), Жовтневої Революції (1981 р.) та 7 медалями. Вона є учасником Великої Вітчизняної війни.

Світла пам'ять про Лору Дмитрівну Проценко, талановитого вченого, керівника назавжди залишиться в серцях колег та учнів.

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»

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 невирішених 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 евтаназії, 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 дослідях, треба подавати в оригінальній транскрипції. Латинські назви роду та виду мікроорганізмів необхідно виділяти курсивом.

Скорочення в тексті слів, імен, термінів (крім загальновідомих) 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 вивіреном. 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-диску, 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

СОДЕРЖАНИЕ

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ НЕЙРОФАРМАКОЛОГИИ

Беленичев И. Ф., Павлов С. В., Кучеренко Л. И. Нейро- и митопротективный эффекты Ангиолина и Цереброкурина	3
--	---

В НАУЧНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ

Дорошенко А. М., Резниченко Л. С., Дыбкова С. Н., Грузина Т. Г., Маранов А. А., Ульберг З. Р., Чекман И. С. Противоанемическая активность субстанции наночастиц железа при пероральном введении крысам	12
Дудикова Д. М., Коробкова Е. С., Токовенко И. П. Антимикоплазменная активность производных 1-адамантанфенола	20
Зеленюк В. Г., Заморский И. И., Давиденко И. С., Паливода О. Г. Морфофункциональные изменения в почках крыс под влиянием статинов при гентамициновой острой почечной недостаточности	25
Поготова Г. А., Горчакова Н. А., Беленичев И. Ф., Чекман И. С. Особенности антиоксидантных и энерготропных механизмов органопротекторного действия препарата омега-3-ненасыщенных жирных кислот при экспериментальном токсическом гепатите	31
Прискока А. О. Исследование острой токсичности наночастиц серебра при внутривенном введении	38
Серединская Н. Н., Мохорт Н. А., Киричок Л. М. Болевая чувствительность и адекватность ее оценки по тесту «tail-flick» у белых крыс	45
Слесарчук В. Ю. Исследование функционального состояния почек крыс в условиях применения лиофильного порошка мякоти арбуза в норме и при острой почечной недостаточности	52
Чикиткина О. М., Ковалевская И. В., Кононенко Н. Н., Чикиткина В. В. Экспериментальное обоснование выбора дозы и носителя субстанции кверцетина в составе нового противодиабетического средства «Гликверина»	57
Щербак М. А., Беленичев И. Ф., Абрамов А. В., Бухтиярова Н. В., Моргунова С. А., Павлов С. В., Каплаушенко А. Г. Исследование кардиопротекторной активности 3-(4-нитрофенил)-5-(нонилсульфонил)-1,2,4-триазол-4-амин	64

РАЗРАБОТКА НОВЫХ МЕТОДИЧЕСКИХ ПРИЕМОВ

Гудзенко А. В. Разработка ВЭЖХ методики определения ди-Е-кофеил-мезовинной кислоты в лекарственных средствах травы хвоща полевого (<i>Equisetum arvense</i> L.)	70
--	----

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Кресюн В. И., Филюк В. В., Антоненко П. Б., Даниленко Ю. Н., Мозолевиц Г. В. Полиморфизм генотипа цитохрома P-450 2E1 у больных туберкулезом	77
--	----

ВОПРОСЫ ФАРМАЦЕВТИКИ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА, ФАРМАКОЭКОНОМИКИ

Макаренко О. В., Соломко Д. С. Фармакоэкономическая оценка терапии аллергического ринита	82
--	----

ИНФОРМАЦИЯ О БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

По страницам журнала «WHO Pharmaceuticals Newsletter»	88
---	----

ЛИЧНОСТИ

Юлия Ивановна Лобода. 1927–2014	93
Лора Дмитриевна Проценко. 1927–2014	94

CONTENT

CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

<i>Belenichev I., Pavlov S., Kucherenko L.</i> Neuro- and mitoprotective effects of the Angiolin and Cerebrocurin	3
---	---

IN SCIENTIFIC LABORATORIES

<i>Doroshenko A. M., Rieznichenko L. S., Dybkova S. M., Gruzina T. G., Maranov A. O., Ulberg Z. R., Chekman I. S.</i> Antianemic activity of iron nanoparticles' substance after oral administration to rats.....	12
<i>Dudikova D. M., Korobkova K. S., Tokovenko I. P.</i> Susceptibility of mycoplasmas to 1-adamantane phenol derivatives.....	20
<i>Zeleniuk V. G., Zamorskii I. I., Davydenko I. S., Palyvoda O. G.</i> Morphofunctional changes in a rat kidney influenced by statins under the conditions of gentamicin-induced acute renal failure	25
<i>Pogotova G. A., Gorchakova N. A., Belenichev I. F., Chekman I. S.</i> Features of antioxidant and energotropic mechanisms of omega-3- unsaturated fatty acids organoprotective action in the experimental toxic hepatitis.....	31
<i>Pryskoka A. O.</i> Acute intravenous toxicity study of silver nanoparticles	38
<i>Seredynskaya N. N., Mokhort N. A., Kiryochok L. M.</i> Pain sensitivity and its adequate assessment in albino rats by the «tail-flick» test	45
<i>Slesarchuk V.</i> Research of renal function in rats under administration of watermelon pulp lyophilic powder in normal state and toxic acute renal failure	52
<i>Chikitkina O. M., Kovalevskaya I. V., Kononenko N. N., Chikitkina V. V.</i> Experimental substantiation of dose selection and carrier for quercetin substance in the new antidiabetic agent Glikverin	57
<i>Shcherbak M. O., Belenichev I. F., Abramov A. V., Bukhtiyarova N. V., Morguntsova S. A., Pavlov S. V., Kaplaushenko A. G.</i> The research of cardioprotective activity of 3-(4-nitrophenyl)-5-(nonylsulfonyl)-1,2,4-triazole-4-amine	64

WORKING OUT OF THE NEW METHODOLOGICAL WAYS

<i>Gudzenko A. V.</i> Development HPLC method of di-E-caffeoyl-mesotartaric acid determination in multicomponent herbal remedies of <i>Equisetum arvense L.</i>	70
---	----

CLINICAL PHARMACOLOGY

<i>Kresyun V. I., Filuk V. V., Antonenko P. B., Danilenko Yu. M., Mozolevich G. V.</i> Polymorphism of cytochrome P-450 2E1 genotype in patients with tuberculosis	77
--	----

ISSUES OF PHARMACY, PHARMACEUTICAL MARKET, PHARMACOECONOMICS

<i>Makarenko O. V., Solomko D. S.</i> Pharmacoeconomic evaluation of allergic rhinitis treatment.....	82
---	----

INFORMATION FOR DRUG`S SAFE USE	88
--	-----------

PERSONALITY.....	93
-------------------------	-----------